

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
30 octobre 2003 (30.10.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 2003/088979 A3

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : C12Q 1/68,  
1/70, A61K 31/088, 38/02, 39/21, C07K 14/15, 16/10,  
C12N 15/48

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2003/001274

(22) Date de dépôt international : 22 avril 2003 (22.04.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
02/05001 22 avril 2002 (22.04.2002) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) :  
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75794 Paris  
Cedex 16 (FR); UNIVERSITE DE MONTPELLIER II [FR/FR]; 2 place Eugène Bataillon, F-34095 MONTPEL-  
LIER Cedex 5 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : KIM, Félix  
Jinhyun [FR/FR]; 65, avenue du Pont Juvenal, Apt.69,  
F-34000 Montpellier (FR). MANEL, Nicolas Gabriel Al-  
bert [FR/FR]; 11, rue Robert Desnos, F-34070 Montpellier  
(FR). SITBON, Marc Khamous Michel [FR/FR]; 17, rue  
de Louvain, F-34000 Montpellier (FR).

(74) Mandataires : DEMACHY, Charles etc.; Gros-  
set-Fournier & Demachy, 54, rue Saint-Lazare, F-75009  
Paris (FR).

(81) États désignés (nationaux) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,  
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE,  
SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,  
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (régionaux) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,  
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet  
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet  
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,  
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,  
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale  
— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des  
revendications, sera republiée si des modifications sont re-  
çues

(88) Date de publication du rapport de recherche  
internationale : 19 février 2004

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: OLIGONUCLEOTIDES FROM SEQUENCES CODING FOR THE SURFACE COMPONENT OF ENVELOPE PRO-  
TEINS OF PRIMATE T-CELL LEUKAEMIA/LYMPHOMA VIRUSES (PTLV) AND USES THEREOF

(54) Titre : OLIGONUCLEOTIDE ISSUS DES SEQUENCES CODANT POUR LA COMPOSANTE DE SURFACE DE PRO-  
TEINES D'ENVELOPPE DES VIRUS DES LYMPHOMES /LEUCEMIES T CHEZ LES PRIMATES (PTLV) ET LEURS UTILI-  
SATIONS

(57) Abstract: The invention relates to the use of oligonucleotides from the nucleotide sequences coding for the amino-terminal  
region of the surface component (SU) of envelope proteins of PTLV viruses in order to perform methods of detecting every PTLV  
strain or PTLV-related viruses, e.g. for the detection of novel PTLV variants or viruses comprising sequences related to PTLV SUs.  
The invention also relates to primer pairs which are used to perform said detection methods and the novel PTLV variants thus detected.

(57) Abrégé : L'invention a pour objet l'utilisation d'oligonucléotides issus des séquences nucléotiques codant pour la région ami-  
noterminale de la composante de surface (SU) des protéines d'enveloppe des virus des PTLV, pour la mise en oeuvre de procédés de  
détection de toute souche de PTLV, ou de virus apparentés aux PTLV, notamment pour la détection de nouveaux variants des PTLV,  
ou de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV. L'invention a également pour objet des couples d'amorces pour  
la mise en oeuvre de ces procédés de détection, ainsi que les nouveaux variants de PTLV ainsi détectés.

## OLIGONUCLEOTIDES ISSUS DES SEQUENCES CODANT POUR LA COMPOSANTE DE SURFACE DES PROTEINES D'ENVELOPPE DES PTLV ET LEURS UTILISATIONS

---

5

La présente invention a pour objet des oligonucléotides issus des séquences nucléotidiques codant pour la région aminoterminal de la composante de surface des protéines d'enveloppe des virus des lymphomes/leucémies T chez les primates, regroupés sous la désignation PTLV, et leurs utilisations dans le cadre de la détection de toute souche de PTLV ou de souches virales apparentées.

10

La présente invention découle de l'identification par les Inventeurs de motifs peptidiques de la SU qui conviennent à la synthèse d'oligonucléotides pouvant être utilisés pour la détection et l'amplification de séquences pan-PTLV comprenant ces motifs. Les inventeurs ont mis au point une méthode permettant l'amplification de telles séquences, leur clonage et séquençage. La présente invention permet notamment la détection de séquences individuelles présentes dans un mélange de séquences des différents types. L'optimisation pour certains des motifs peptidiques ainsi identifiés a déjà permis la caractérisation de variants PTLV jamais encore décrits, ainsi que de détecter des séquences PTLV dont la présence dans les échantillons testés n'était pas suspectée. L'application généralisée de la présente invention permettra la détection et la caractérisation soit de nouvelles séquences apparentées aux SU de PTLV, soit de séquences déjà connues dans de nouveaux contextes pathologiques ou non.

15

20

La recherche de séquences des rétrovirus humains ou de primates est primordiale dans de nombreux contextes. De manière non-exhaustive, ces recherches intéressent le criblage de matériels biologiques (produits dérivés du sang, par exemple), le diagnostic (recherche de l'étiologie de syndromes multiples couvrant leucémies, maladies dégénératives, maladies autoimmunes, etc), les études épidémiologiques et anthropologiques des différents groupes humains, le séquençage des génomes (composition et marqueurs rétroviraux polymorphiques des génomes), le criblage de nouveaux médicaments (définition de nouvelles cibles), etc.

25

Dans le cas des PTLV, nous relèverons deux exemples des problèmes associés à la détection de leurs séquences. Dans le premier exemple, des individus, généralement réunis sous le terme de "séroindéterminés", présentent une réponse immune anti-HTLV dite "incomplète", dirigée contre certains antigènes seulement des PTLV, alors qu'aucune séquence correspondant à des PTLV ne peut être amplifiée à partir d'échantillons sanguins de

30

ces patients. Dans les cas les mieux documentés la recherche de telles séquences se fait sur des régions conservées des gènes *gag*, *pol*, *env* et *tax*. Dans le cas du gène d'enveloppe, la partie amino terminale de la SU est écartée de cette approche du fait de sa variabilité. La région amino terminale, de la composante de surface (SU) des enveloppes des rétrovirus de primates humains et non-humains de type HTLV et STLV (regroupés ici sous le terme PTLV) est notamment responsable de la reconnaissance du ou des récepteurs cellulaires pour l'enveloppe (Kim et coll, 2000). À ce jour, aucune méthode d'amplification dans cette région directement applicable aux trois types de PTLV (application dite pan-PTLV) n'a été décrite. Ainsi, généralement seule est considérée l'amplification de motifs présents dans les parties les plus conservées de la composante transmembranaire de l'enveloppe (TM). Toutefois, dans la mesure où la variabilité de la SU est un élément essentiel de la biologie adaptative des rétrovirus, la mise au point d'une approche basée sur sa détection représente un objectif particulièrement intéressant.

La présente invention a pour objet l'utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés en orientation 5' et 3' issus des séquences nucléotidiques codant pour la région aminoterminal de la composante de surface (SU) des protéines d'enveloppe des virus des lymphomes / leucémies T chez les primates, regroupés sous la désignation PTLV, ces virus étant encore désignés HTLV chez l'homme et STLV chez le singe, à savoir de la région correspondant aux fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, ou de virus portant des séquences apparentées aux SU des PTLV,

pour la mise en œuvre de procédés de détection de toute souche de PTLV, à savoir de toute souche appartenant aux HTLV-1, HTLV-2, STLV-1, STLV-2, et STLV-3, ainsi que de toute souche de virus apparentées aux PTLV, à savoir de toute souche dont la séquence en acides aminés déduite de la séquence nucléotidique codant pour la région aminoterminal de la SU présente un taux d'homologie d'au moins environ 30% avec les séquences en acides aminés codées par les séquences nucléotidiques correspondantes chez les PTLV, notamment pour la détection de nouveaux variants des PTLV, ou de virus, nouveaux ou non, comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV, le cas échéant dans de nouveaux contextes pathologiques, lesdits procédés comprenant une étape d'amplification, à partir d'un échantillon biologique susceptible de contenir des PTLV, et à l'aide des oligonucléotides 5' et 3' dégénérés susmentionnés utilisés en tant qu'amorces, du nombre de copies de fragments

nucléotidiques délimités en position 5' par l'oligonucléotide dégénéré en orientation 5', et en position 3' par l'oligonucléotide dégénéré en orientation 3', et une étape d'identification de la souche de PTLV contenue dans l'échantillon biologique à partir des fragments nucléotidiques amplifiés susmentionnés.

- 5 L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, caractérisée en ce que lesdits oligonucléotides sont choisis parmi ceux comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus des séquences nucléotidiques codant pour des fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un
- 10 acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45, ou la souche de STL-3 représentée par SEQ ID NO : 47, lesdits oligonucléotides dégénérés comprenant un mélange d'oligonucléotides issus de séquences codant pour une
- 15 région déterminée d'environ 5 à 10 acides aminés des protéines d'enveloppe des différentes souches de PTLV, et qui diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée issue des fragments protéiques des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de
- 20 HTLV-1, ou la souche NRA de HTLV-2, ou la souche de STL-3 susmentionnées.

- L'invention a également plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus de séquences nucléotidiques codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques
- 25 délimités par les acides aminés situés aux positions 80 à 245, et plus particulièrement aux positions 83 à 241, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 (Gray et al., 1990, Virology, 177 : 391-395 ; n° d'accès Genbank M37747) représentée par SEQ ID NO : 43.

- L'invention concerne plus particulièrement encore l'utilisation susmentionnée de
- 30 couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, issus de séquences nucléotidiques codant pour les fragments polypeptidiques 83-88, 140-145, 222-228, et 237-241, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, à savoir les fragments suivants :

83-YL/VFPHW-88

140 - NFTQ/REV - 145

222-NYS/TCI/MVC-228

237-WHVLV-241

- 5 L'invention concerne plus particulièrement encore l'utilisation susmentionnée d'oligonucléotides dégénérés en orientation 5' issus du brin ADN (+) codant pour :

- le fragment polypeptidique 83-88 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (I) suivante :

TAYBTINTTYCCNCAYTGG (I) SEQ ID NO : 5

- 10 dans laquelle :

Y représente C ou T,

B représente C, G ou T,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

- 15 PTLVES<sup>5'</sup>83a TAYBTINTTYCCNCACTGG SEQ ID NO : 6

PTLVES<sup>5'</sup>83b TAYBTINTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 7

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

- ou le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (II) suivante :

- 20 AAYTTYACNCARGAGT (II) SEQ ID NO : 8

dans laquelle :

Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

- 25 telles que les amorces oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PILVES<sup>5'</sup>140a AAYTTYACNCAAGAAAGT SEQ ID NO : 9

PILVES<sup>5'</sup>140b AAYTTYACNCAGGAAGT SEQ ID NO : 10

PILVES<sup>5'</sup>140c AAYTTYACNCAAGAGGT SEQ ID NO : 11

PILVES<sup>5'</sup>140d AAYTTYACNCAGGAGGT SEQ ID NO : 12

- 30 Y et N étant tels que définis ci-dessus.

L'invention concerne plus particulièrement encore l'utilisation susmentionnée, d'oligonucléotides dégénérés en orientation 3' issus du brin ADN (-) codant pour :

- le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (III) suivante :

NACYTCYTGNGTRAATT (III) SEQ ID NO : 13

dans laquelle :

5 Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'145a NACYTCYTGNGTAAAAATT SEQ ID NO : 14

10 PILVE3'145b NACYTCYTGNGTGAAATT SEQ ID NO : 15

PILVE3'145c NACYTCYTGNGTAAAGIT SEQ ID NO : 16

PILVE3'145d NACYTCYTGNGTGAAGIT SEQ ID NO : 17

Y et N étant tels que définis ci-dessus,

- ou le fragment polypeptidique 222-228 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2

15 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (IV) suivante :

RMNACNATRCANSWRTARTT (IV) SEQ ID NO : 18

dans laquelle :

R représente A ou G,

M représente A ou C,

20 S représente C ou G,

W représente A ou T,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'228a RMNACNATRCANSAATAATT SEQ ID NO : 19

25 PILVE3'228b RMNACNATRCANSAGTAAATT SEQ ID NO : 20

PILVE3'228c RMNACNATRCANSAATAGIT SEQ ID NO : 21

PILVE3'228d RMNACNATRCANSAGTAGIT SEQ ID NO : 22

PILVE3'228e RMNACNATRCANSTATAATT SEQ ID NO : 23

PILVE3'228f RMNACNATRCANSTGTAAATT SEQ ID NO : 24

30 PILVE3'228g RMNACNATRCANSTATAGIT SEQ ID NO : 25

PILVE3'228h RMNACNATRCANSTGTAGIT SEQ ID NO : 26

R, M, S, et N étant tels que définis ci-dessus,

- ou le fragment polypeptidique 237-241 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (V) suivante :

RTANARNACRTGCCA (V) SEQ ID NO : 27

dans laquelle :

5 R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PTLVE3'241a RTANARNACATGCCA SEQ ID NO : 28

PTLVE3'241b RTANARNACGTGCCA SEQ ID NO : 29

10 R, et N étant tels que définis ci-dessus.

L'invention concerne également l'utilisation susmentionnées d'oligonucléotides tels que définis ci-dessus, comportant à leur extrémité 5' une séquence comprenant un site de restriction, tels que les sites EcoRI, de séquence GAATTC, ou BamHI, de séquence GGATCC.

15 A ce titre, l'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée d'oligonucléotides tel que définis ci-dessus, caractérisés en ce que les oligonucléotides 5' issus du brin ADN (+) correspondant aux fragments polypeptidiques 83-88 ou 140-145 comprennent en 5' une séquence GGAAGAATTC, et en ce que les oligonucléotides 3' issus du brin ADN (-) correspondant aux fragments polypeptidiques 140-145, 222-228, et 237-241  
20 comprennent en 5' une séquence GGAAGGATCC.

L'invention a également pour objet l'utilisation susmentionnée d'oligonucléotides tels que définis ci-dessus en tant que sondes, le cas échéant marquées, pour la mise en œuvre de procédés de détection susmentionnés de PTLV et de souches apparentées.

25 L'invention concerne également l'utilisation susmentionnée d'oligonucléotides tels que définis ci-dessus, en tant que couples d'amorces nucléotidiques pour la mise en œuvre de réactions de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection de toute souche de PTLV, ainsi que de toute souche de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de couples d'amorces choisis de telle manière que :

30 - les oligonucléotides dégénérés 5' correspondent à un mélange d'oligonucléotides 5' issus d'une même région nucléotidique déterminée comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus du brin ADN (+) et codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un

acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 135 à 150 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, notamment codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus du fragment protéique délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 83 et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides 5' étant tels qu'ils diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée issue des fragments protéiques des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, ou la souche NRA de HTLV-2, ou la souche de STL-3 susmentionnées,

- les oligonucléotides dégénérés 3' correspondent à un mélange d'oligonucléotides 3' issus d'une même région nucléotidique déterminée comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus du brin ADN (-) et codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 125 à 145, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, notamment codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus du fragment protéique délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 140 et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 241 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides 3' étant tels qu'ils diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée issue des fragments protéiques des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, ou la souche NRA de HTLV-2, ou la souche de STL-3 susmentionnées,

étant bien entendu que lesdites amorces 5' et 3' susmentionnées ne peuvent pas être complémentaires l'une de l'autre.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée de couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, caractérisée en ce que les oligonucléotides dégénérés 5' sont choisis parmi les oligonucléotides 5' de formules (I) et (II) susmentionnées, et en ce que les oligonucléotides dégénérés 3' sont choisis parmi les oligonucléotides 3' de formules (III) à (V) susmentionnées.



L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée de couples d'amorces tels que définis ci-dessus, caractérisée en ce que l'amorce 5' est choisie parmi les oligonucléotides 5' issus du brin ADN (+) correspondant aux fragments polypeptidiques 83 – 88 ou 140-145 définis ci-dessus, telles que les amorces PTLVE 5'83 a et b et PTLVE 5' 140 a à d susmentionnés, et en ce que l'amorce 3' est choisie parmi les oligonucléotides 3' issus du brin ADN (-) correspondant aux fragments polypeptidiques 140 – 145, 222 – 228 ou 237 – 241 définis ci-dessus, telles que les amorces PTLVB 3'145 a à d, PTLV3'228 a à h, et PTLVE 3'145 a à d, PTLV 3'228 a à h, et PTLVB 3'241 a et b susmentionnées.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, lesdits oligonucléotides étant choisis de manière à ce qu'ils permettent l'amplification, à partir d'un échantillon biologique susceptible de contenir de l'ADN de PTLV, de séquences nucléotidiques codant pour des fragments protéiques comprenant une séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 89, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé en position 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou comprenant une séquence analogue comprise dans la protéine d'enveloppe d'une autre souche de PTLV que HTLV-1, telle que la séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 85, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé en position 135 de la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45, ou la séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 88, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé en position 144 de la protéine d'enveloppe de la souche de STL-3 représentée par SEQ ID NO : 47.

L'invention a plus particulièrement pour objet encore l'utilisation susmentionnée de couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, caractérisée en ce que les oligonucléotides dégénérés 5' sont choisis parmi les oligonucléotides 5' de formule (I) susmentionnée, et en ce que les oligonucléotides dégénérés 3' sont choisis parmi les oligonucléotides 3' de formules (III) à (V) susmentionnées.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée de couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, caractérisée en ce que :

- les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

- les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (III) suivante :

PILVE3'145a NACYTCYTGNGTAAAATT

SEQ ID NO : 14

Y et N étant tels que définis ci-dessus.

L'invention concerne également les oligonucléotides tels que définis ci-dessus, en tant que tels.

- 5 A ce titre, l'invention a plus particulièrement pour objet les oligonucléotides tels que définis ci-dessus, correspondants :

- aux oligonucléotides dégénérés en orientation 5' issus du brin ADN (+) codant pour :

\* le fragment polypeptidique 83-88 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (I) suivante :

10 TAYBTNTTYCCNCAYTGG (I) SEQ ID NO : 5

dans laquelle :

Y représente C ou T,

B représente C, G ou T,

N représente A, C, G ou T,

- 15 telles que les amorces oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PTLVE5'83a TAYBTNTTYCCNCACTGG SEQ ID NO : 6

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 7

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

- 20 \* le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (II) suivante :

AAATTYACNCARGARGT (II) SEQ ID NO : 8

dans laquelle :

Y représente C ou T,

- 25 R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PTLVE5'140a AAYTTYACNCAAGAAGT SEQ ID NO : 9

PTLVE5'140b AAYTTYACNCAGGAAGT SEQ ID NO : 10

- 30 PTLVE5'140c AAYTTYACNCAAGAGGT SEQ ID NO : 11

PTLVE5'140d AAYTTYACNCAGGAGGT SEQ ID NO : 12

Y et N étant tels que définis ci-dessus,

- aux oligonucléotides *dégénérés* en orientation 3' issus du brin ADN (-) codant pour :

\* le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (III) suivante :

5      NACYTCYTGNGTRAARTT      (III)      SEQ ID NO : 13

dans laquelle :

Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

10      telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3\*145a      NACYTCYTGNGTAAAAATT      SEQ ID NO : 14

PILVE3\*145b      NACYTCYTGNGTGAAATT      SEQ ID NO : 15

PILVE3\*145c      NACYTCYTGNGTAAAGTT      SEQ ID NO : 16

PILVE3\*145d      NACYTCYTGNGTGAAGTT      SEQ ID NO : 17

15      Y et N étant tels que définis ci-dessus,

\* le fragment polypeptidique 222-228 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (IV) suivante :

RMNACNATRCANSWRTARTT      (IV)      SEQ ID NO : 18

20      dans laquelle :

R représente A ou G,

M représente A ou C,

S représente C ou G,

W représente A ou T,

25      N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3\*228a      RMNACNATRCANSAATAATT      SEQ ID NO : 19

PILVE3\*228b      RMNACNATRCANSAGTAATT      SEQ ID NO : 20

PILVE3\*228c      RMNACNATRCANSAATAGTT      SEQ ID NO : 21

30      PILVE3\*228d      RMNACNATRCANSAGTAGTT      SEQ ID NO : 22

PILVE3\*228e      RMNACNATRCANSTATAATT      SEQ ID NO : 23

PILVE3\*228f      RMNACNATRCANSTGTAATT      SEQ ID NO : 24

PILVE3\*228g      RMNACNATRCANSTATAGTT      SEQ ID NO : 25

PTLVE3'228h RMNACNATRCANSTGTAGTT SEQ ID NO : 26

R, M, S, et N étant tels que définis ci-dessus,

\* le fragment polypeptidique 237-241 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (V) suivante :

RTANARNACRTGCCA (V) SEQ ID NO : 27

dans laquelle :

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'241a RTANARNACATGCCA SEQ ID NO : 28

PILVE3'241b RTANARNACGTGCCA SEQ ID NO : 29

R, et N étant tels que définis ci-dessus.

L'invention a également pour objet un procédé de détection de toute souche de PTLV, à savoir de toute souche appartenant aux HTLV-1, HTLV-2, STLV-1, STLV-2, et STLV-3, ainsi que de toute souche de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV, telles que définies ci-dessus, caractérisé en ce qu'il comprend :

- la mise en contact d'un couple d'oligonucléotides dégénérés 5' et 3' tels que définis ci-dessus, avec l'ADN génomique ou l'ADN complémentaire dérivé à partir d'ARN extraits du contenu d'un échantillon biologique (tels que cellules sanguines, de moelle osseuse, biopsies, notamment de peau ou autres organes, ou frottis) susceptible de contenir des PTLV tels que définis ci-dessus,

- l'amplification de fragments d'ADN codant pour un fragment des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV tel que défini ci-dessus,

- la détection des fragments d'ADN amplifiés lors de l'étape précédente, cette détection pouvant être corrélée à la détection et le cas échéant à l'identification de PTLV tels que définis ci-dessus dans ledit échantillon biologique.

L'invention concerne également un procédé de détection de toute souche de PTLV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que l'étape d'amplification comprend la mise en œuvre de deux réactions d'amplification, la deuxième réaction étant effectuée sur un échantillon de produits obtenus dans le cadre de la première réaction à l'aide des mêmes oligonucléotides 5' que dans le cas de la première réaction, et d'oligonucléotides 3' différents de ceux utilisés dans la première réaction, à savoir des amorces 3' dites « nichées » hybridant avec une région

située plus en amont de la séquence codant pour la SU que les amorces 3' utilisées dans la première réaction.

L'invention a également pour objet un procédé de détection de toute souche de PTLV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il comprend :

- 5 - une première réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis parmi les couples :

\* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (IV), ou

\* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (V), ou

\* oligonucléotides de formule (II)/oligonucléotides de formule (V),

- 10 - et une deuxième étape d'amplification du nombre de copies de fragments d'ADN obtenus lors de l'étape précédente à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis respectivement parmi les couples :

\* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (III), ou

\* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (III ou IV), ou

- 15 \* oligonucléotides de formule (II)/oligonucléotides de formule (IV),

- la détection des fragments d'ADN amplifiés lors de l'étape précédente, cette détection pouvant être corrélée à la détection et le cas échéant à l'identification de PTLV dans l'échantillon biologique.

L'invention concerne également un procédé de détection de toute souche de PTLV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il comprend :

20 - une première réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis de telle manière que :

\* les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5

- 25 Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

\* les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (V) suivante :

PTLVE3'241b RTANARNACGTGCCA SEQ ID NO : 29

R, et N étant tels que définis ci-dessus,

- une deuxième réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis de telle manière que :

\* les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

\* les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (III) suivante :

PILVE3'145a NACYTCYTGNGTAAAAATT

SEQ ID NO : 14

Y et N étant tels que définis ci-dessus.

L'invention concerne plus particulièrement un procédé de détection tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que l'étape d'amplification est effectuée dans les conditions suivantes :

- dénaturation à 94°C pendant 5 min,
- une première réaction PCR en conditions dites de « touch down » effectuée dans un milieu contenant de la Taq polymérase ou autres ADN polymérases fonctionnant à haute température, cette première réaction PCR comprenant :

- 15 cycles d'affilée « touch down » variant par la température d'élongation qui diminue de 1°C à chaque cycle comprenant :

- \* une étape de dénaturation à 94°C pendant 15 sec,
- \* une étape combinant appariement et élongation à une température variant entre 65°C et 50 °C pendant 20 sec,

- 30 cycles classiques comprenant :

- \* une étape de dénaturation à 94°C pendant 15 sec,
- \* une étape d'appariement à 50°C pendant 30 sec,
- \* une étape d'élongation à 72°C pendant 30 sec,

- une deuxième réaction PCR effectuée sur un échantillon de produits obtenus dans le cadre de la première réaction PCR susmentionnée à l'aide de la même amorce 5' que dans le cas de la réaction PCR précédente, et d'une amorce 3' différente de celle utilisée dans la réaction PCR précédente, à savoir une amorce 3' dite « nichée » hybridant avec une région située plus en amont de la séquence codant pour la SU que l'amorce 3' utilisée à l'étape précédente.

L'invention a plus particulièrement pour objet un procédé de détection tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que l'étape de détection, et le cas échéant d'identification, est effectuée dans les conditions suivantes :

- ligation directe des fragments amplifiés lors de l'étape d'amplification dans un plasmide tel que pCR4-TOPO (Invitrogen),
- transformation de bactéries avec le plasmide susmentionné comprenant un gène marqueur tel qu'un gène de résistance à un antibiotique, notamment à la kanamycine,

- repiquage de colonies bactériennes (notamment entre 10 et 100), culture, extraction de l'ADN, et séquençage (notamment à l'aide des amorces universelles T3 ou T7 dans le cas de l'utilisation du vecteur pCR4-TOPO).

5 L'invention concerne également une trousse ou kit pour la mise en œuvre d'un procédé de détection tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il comprend un couple d'oligonucléotides dégénérés susmentionnés, et, le cas échéant, les réactifs nécessaires à la mise en œuvre de la réaction d'amplification par PCR et pour la détection des fragments amplifiés.

10 L'invention a également pour objet l'application du procédé de détection défini ci-dessus au diagnostic de pathologies liées à une infection par un PTLV, ou par un virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV, chez l'homme ou l'animal, telles que les hémopathies, les maladies auto-immunes, les maladies inflammatoires, les maladies dégénératives.

15 A ce titre, l'invention concerne toute méthode de diagnostic in vitro de pathologies susmentionnées par mise en œuvre d'un procédé de détection défini ci-dessus, la détection de fragments d'ADN amplifiés pouvant être corrélée au diagnostic desdites pathologies.

Le cas échéant, les méthodes de diagnostic in vitro de l'invention comprenant une étape supplémentaire d'identification de PTLV ou virus apparentés aux PTLV présents dans l'échantillon biologique, par séquençage des fragments d'ADN amplifiés.

20 L'invention a également pour objet l'application du procédé de détection défini ci-dessus, au criblage et à l'identification de nouveaux agents infectieux chez l'homme ou l'animal, et plus particulièrement de nouvelles souches (ou variants) de virus susceptibles d'être classés dans les PTLV, ou de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV.

25 Les méthodes de criblage et d'identification susmentionnées de nouveaux agents infectieux sont effectuées par mise en œuvre d'un procédé de détection défini ci-dessus et comprennent une étape supplémentaire d'identification des nouveaux variants de PTLV ou de virus apparentés par séquençage des fragments d'ADN amplifiés.

30 L'invention concerne également l'application du procédé de détection défini ci-dessus au criblage de gènes de prédisposition ou de résistance à des pathologies chez l'homme ou l'animal liées à la présence de séquences des PTLV ou de séquences apparentées, ou à une infection par un PTLV, telles que les hémopathies, les maladies auto-immunes, les maladies dégénératives.

L'invention a également pour objet l'application du procédé de détection défini ci-dessus, au criblage ou à la conception de nouveaux agents thérapeutiques comprenant des séquences entières ou partielles des protéines d'enveloppe de nouveaux variants de PTLV ainsi détectés.

- 5 L'invention concerne également l'application du procédé de détection tel que défini ci-dessus, au criblage ou à la conception de nouveaux vecteurs de thérapie cellulaire utilisant les propriétés de tropisme des séquences entières ou partielles des protéines d'enveloppe de nouveaux variants de PTLV ainsi détectés.

- 10 L'invention a également pour objet les variants de type HTLV-1 tels qu'obtenus par mise en œuvre d'un procédé de détection défini ci-dessus, correspondants :

- au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 31 suivante :

- I K K P N P N G G G Y Y L A S Y S D  
 P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y  
 15 T G A V S S P Y W K F Q Q D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu arginine (R) en position 94, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu proline (P) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 30 suivante :

- ATT AAA AAG CCA AAC CCA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
 25 ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 281, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par C, T, et A indiqués en gras et soulignés.

- 30 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 33 suivante :

V K K P N R N G G Y Y L A S Y S D  
 P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y  
 T G A V S S P Y W K F Q Q D V



à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu isoleucine (I) en position 89, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu valine (V) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et

5 soulignés,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 32 suivante :

5 GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
10 ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle A en position 266, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par G, T, et A indiqués en gras et soulignés.

15 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 35 suivante :

I K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D  
P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y  
T G A V S S P Y W K F Q Q D V

20 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu sérine (S) en position 101, est remplacé par un résidu leucine (L) indiqué en gras et souligné,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 34 suivante :

25 ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAA CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle C en position 302, G en position 333, et G en position 408, sont respectivement remplacés par T, A, et A indiqués en gras et soulignés.

- au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 37 suivante :

35 I K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D

P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y  
T G P V S S P Y W K F Q Q D V

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu alanine (A) en position 127, est remplacé par un résidu proline (P) indiqué en gras et souligné,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 36 suivante :

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
ACA GGA CCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 379, est remplacé par C indiqué en gras et souligné,

- au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 39 suivante :

I K K P N R N G G Y H S A S Y S D P  
C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y A G  
A V S S P Y W K F Q Q D V N F T Q E V

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu tyrosine (Y) en position 100, et le résidu thréonine (T) en position 125, sont respectivement remplacés par un résidu histidine (H) et un résidu alanine (A) indiqués en gras et soulignés,

- et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 38 suivante :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT CAT TCA GCC TCT TAT TCA  
GAC CCT TGT TCC TTA AAG TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC  
CCC TAT GCA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC  
AAT TTT ACC CAG GAA GTA

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 435 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle T en position 298, A en position 373, T en position 426, A en position 429, et T en position 435, sont respectivement remplacés par C, G, C, G, et A indiqués en gras et soulignés.

L'invention a également pour objet le variant de type HTLV-2 tel qu'obtenu par mise en œuvre d'un procédé de détection défini ci-dessus, caractérisé en ce que:

- sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO :

41 suivante :

5 I R K P N R Q G L G Y Y S P S Y N D  
P C S L Q C P Y L G S Q S W T C P Y  
T A P V S T P S W N F H S D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 85 à 135 de la protéine d'enveloppe de la souche prototype NRA de HTLV-2 (décrite par Lee et al., 1993. Virology 196, 57-69 ; n° d'accès Genbank L20734.1), dans laquelle les résidus lysine (K) en position 86, cystéine (C) en position 113, glycine (G) en position 122, sérine (S) en position 126, et lysine (K) en position 130, sont respectivement remplacés par les résidus arginine (R), sérine (S), alanine (A), thréonine (T), et asparagine (N) indiqués en gras et soulignés,

- la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 40 suivante :

ATA AGA AAG CCA AAC AGA CAG GGC CTA GGG TAC TAC TCG CCT TCC TAC AAT GAC  
CCT TGC TCG CTA CAA TGC CCC TAC TTG GGC TCC CAA TCA TGG ACA TGC CCA TAC  
ACG GCC CCC GTC ACT CCA TCC TGG AAT TTT CAT TCA GAT GTA

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 253 à 405 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2, dans laquelle A en position 257, G en position 258, T en position 267, A en position 282, C en position 294, T en position 300, A en position 333, G en position 338, G en position 365, G en position 377, G en position 390, et C en position 396, sont respectivement remplacés par G, A, C, G, T, C, G, C, C, C, T, et T indiqués en gras et soulignés.

L'invention concerne également les polypeptides délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45, ou de la souche de STL-3 représentée par SEQ ID NO : 47, ou de virus portant des séquences apparentées aux SU des PTLV, ou délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 135 à 150 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV.

L'invention a également pour objet les polypeptides définis ci-dessus, choisis parmi :

- le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 83 ou 89, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 139 ou 145, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43,
- 5 - le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 79 ou 85, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 135 ou 141, de la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45,
- le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 82 ou 88, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 138 ou 144, de la protéine d'enveloppe de la souche de STL-3 représentée par SEQ ID NO : 47.

L'invention concerne également les polypeptides codés par les fragments d'ADN amplifiés dans le cadre du procédé de détection défini ci-dessus, des variants de type HTLV-1 à HTLV-2 susmentionnés, caractérisés en ce qu'ils comprennent les séquences peptidiques suivantes :

- 15 - polypeptide 1 (SEQ ID NO : 31) :

I	K	K	P	N	<u>P</u>	N	G	G	G	Y	Y	<u>L</u>	A	S	Y	S	D
P	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
T	G	A	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V			

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu arginine (R) en position 94, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu proline (P) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

-polypeptide 2 (SEQ ID NO : 33):

- 25 V K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D
- |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| P | C | S | L | K | C | P | Y | L | G | C | Q | S | W | T | C | P | Y |
| T | G | A | V | S | S | P | Y | W | K | F | Q | Q | D | V |   |   |   |

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu isoleucine (I) en position 89, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu valine (V) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

- polypeptide 3 (SEQ ID NO : 35):

- 35 I K K P N R N G G Y Y L A S Y S D
- |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| P | C | S | L | K | C | P | Y | L | G | C | Q | S | W | T | C | P | Y |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|

T G A V S S P Y W K F Q Q D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu sérine (S) en position 101, est remplacé par un résidu leucine (L) indiqué en gras et souligné.

- polypeptide 4 (SEQ ID NO : 37):

I K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D  
P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y  
T G P V S S P Y W K F Q Q D V

10 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu alanine (A) en position 127, est remplacé par un résidu proline (P) indiqué en gras et souligné,

- polypeptide 5 (SEQ ID NO : 39) :

11 I K K P N R N G G Y H S A S Y S D P  
C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y A G  
A V S S P Y W K F Q Q D V N F T Q E V

20 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu tyrosine (Y) en position 100, et le résidu thréonine (T) en position 125, sont respectivement remplacés par un résidu histidine (H) et un résidu alanine (A) indiqués en gras et soulignés,

- polypeptide 6 (SEQ ID NO : 41) :

25 I R K P N R Q G L G Y Y S P S Y N D  
P C S L Q C P Y L G S Q S W T C P Y  
T A P V S T P S W N F H S D V

30 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 85 à 135 de la protéine d'enveloppe de la souche prototype NRA de HTLV-2, dans laquelle les résidus lysine (K) en position 86, cystéine (C) en position 113, glycine (G) en position 122, sérine (S) en position 126, et lysine (K) en position 130, sont respectivement remplacés par les résidus arginine (R), sérine (S), alanine (A), thréonine (T), et asparagine (N) indiqués en gras et soulignés.

L'invention a également pour objet les acides nucléiques caractérisés en ce qu'ils codent pour un polypeptide tel que défini ci-dessus.

L'invention concerne plus précisément les acides nucléiques susmentionnés, comprenant les séquences nucléotidiques suivantes :

- acide nucléique 1 a (SEQ ID NO : 30):

ATT AAA AAG CCA AAC CCA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
 5 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
 ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 281, C en position 302, et G en position 333, sont  
 10 respectivement remplacés par C, T, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 1 susmentionné,

- acide nucléique 2 a (SEQ ID NO : 32):

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
 15 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
 ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle A en position 266, C en position 302, et G en position 333, sont  
 20 respectivement remplacés par G, T, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 2 susmentionné,

- acide nucléique 3 a (SEQ ID NO : 34) :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
 25 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
 ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAA CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle C en position 302, G en position 333, et G en position 408, sont  
 30 respectivement remplacés par T, A, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 3 la revendication 24,

- acide nucléique 4 a (SEQ ID NO : 36):

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
 35 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT

ACA GGA CCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 379, est remplacé par C indiqué en gras et souligné,

- 5 ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 4 susmentionné,

- acide nucléique 5 a (SEQ ID NO : 38) :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT CAT TCA GCC TCT TAT TCA  
 10 GAC CCT TGT TCC TTA AAG TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC  
 CCC TAT GCA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC  
 AAT TTT ACC CAG GAA GTA

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 435 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle T en position 298, A en position 373, T en position 426, A en position 429, et T en position 435, sont respectivement remplacés par C, G, C, G, et A indiqués en gras et soulignés.

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 5 susmentionné,

- acide nucléique 6 a (SEQ ID NO : 40):

20 ATA AGA AAG CCA AAC AGA CAG GGC CTA GGG TAC TAC TCG CCT TCC TAC AAT GAC  
 CCT TGC TCG CTA CAA TGC CCC TAC TTG GGC TCC CAA TCA TGG ACA TGC CCA TAC  
 ACG GCC CCC GTC TCC ACT CCA TCC TGG AAT TTT CAT TCA GAT GTA

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 253 à 405 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2, dans laquelle A en position 257, G en position 258, T en position 267, A en position 282, C en position 294, T en position 300, A en position 333, G en position 338, G en position 365, G en position 377, G en position 390, et C en position 396, sont respectivement remplacés par G, A, C, G, T, C, G, C, C, T, et T indiqués en gras et soulignés,

- ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 6 susmentionné.

L'invention concerne également les anticorps polyclonaux ou monoclonaux dirigés contre un nouveau variant de type HTLV - 1 ou HTLV - 2 tel que défini ci-dessus, ou contre un polypeptide défini ci-dessus, lesdits anticorps étant tels qu'obtenus par immunisation d'un animal approprié avec un polypeptide susmentionné.

L'invention a également pour objet toute composition pharmaceutique, notamment vaccins ou vecteurs thérapeutiques, conçus à partir des nouveaux variants de type HTLV-1 ou HTLV-2 tels que définis ci-dessus, et plus particulièrement toute composition pharmaceutique comprenant un polypeptide selon l'invention tel que défini ci-dessus, notamment les  
5 polypeptides 1 à 6 définis ci-dessus, ou un acide nucléique 1a à 6a défini ci-dessus, ou des anticorps susmentionnés, le cas échéant en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

L'invention concerne également l'utilisation des nouveaux variants de type HTLV-1 ou HTLV-2 tels que définis ci-dessus, ou des polypeptides selon l'invention tels que définis ci-  
10 dessus, notamment des polypeptides 1 à 6, ou des acides nucléiques 1a à 6a définis ci-dessus, ou des anticorps susmentionnés, pour la préparation de médicaments destinés à la prévention ou au traitement des infections d'un individu par les PTLV susmentionnés, ainsi que des pathologies définies ci-dessus liées à l'infection par ces PTLV.

L'invention sera davantage illustrée à l'aide de la description détaillée qui suit de  
15 l'obtention d'amorces selon l'invention et de leur utilisation pour la détection de nouveau variants de HTLV.

## **I. MISE AU POINT D'OUTILS MOLECULAIRES ET DE STRATEGIES DE DETECTION DE SEQUENCES PAN-PTLV PAR AMPLIFICATION, CLONAGE ET 20 SEQUENÇAGE, DE SEQUENCES NUCLEOTIDIQUES APPARENTEES AUX SU DES ENVELOPPES PTLV.**

### **1. Recherche de motifs peptidiques conservés en N-terminus des SU de PTLV**

La question principale résolue par les inventeurs est la mise au point d'outils et d'une  
25 méthode permettant d'amplifier, de cloner et d'identifier toute séquence nucléotidique apparentée à la SU des PTLV qui est responsable de la reconnaissance de leur récepteur cellulaire (Kim et coll, 2000). Pour cela, les inventeurs ont cherché des motifs peptidiques conservés dans la SU des enveloppes de PTLV pour en déduire des séquences nucléotidiques permettant de les représenter toutes. Ces motifs peptidiques devaient répondre idéalement aux  
30 5 critères suivants, selon leur importance décroissante:

- Etre conservés parmi la plupart, sinon la totalité, des séquences déjà décrites d'enveloppes de PTLV. Une telle conservation serait une garantie de leur efficacité potentielle dans la détection de nouvelles séquences de type PTLV.



- Représenter au moins 5 acides aminés conservés de la SU des PTLV, afin d'en dériver une séquence minimale de 15 nucléotides. En effet, étant donnée la complexité des génomes eucaryotes, ce minimum de 15 nucléotides est requis pour permettre la détection spécifique d'une séquence nucléotidique donnée.

- 5 - Permettre l'amplification de séquences situées en amont du motif C I/M V C qui est conservé dans la SU des PTLV et semble analogue au motif CWLC décrit dans la SU des MuLV (Sitbon et coll, 1991). Ce motif semble en effet, marquer une région charnière entre, en son amont, la partie de la SU responsable de la reconnaissance du récepteur et, en son aval, les domaines carboxy terminaux de la SU impliqués dans l'association avec la TM et des étapes
- 10 de l'entrée virale postérieures à la reconnaissance du récepteur (Battini, et coll, 1992; Battini et coll, 1995; Lavillette et coll, 1998; Kim et coll, 2000; Lavillette et coll, 2001). Etre suffisamment distants les uns des autres pour permettre l'amplification d'un fragment dont la longueur augmenterait les chances de détection d'un polymorphisme éventuel entre différentes séquences.

- 15 - Etre situés de façon à permettre deux réactions d'amplifications d'ADN successives, dont la deuxième, nichée, est réalisée à partir des produits de la première amplification, et permettrait l'amplification d'un fragment interne au premier fragment amplifié. Cette amplification nichée permettrait d'augmenter la probabilité d'amplification d'un fragment qui corresponde bien à une séquence apparentée à la SU des PTLV.

- 20 Selon ces critères, les inventeurs ont identifié les motifs d'acides aminés suivants, présents dans toutes ou la quasi-totalité des SU connues de PTLV, et pouvant se prêter au développement de cette stratégie :

- Motif peptidique 1 : Y L/V F P H W
- 25 - Motif peptidique 2 : N F T Q/R E V
- Motif peptidique 3 : N Y S/T C I/M V C
- Motif peptidique 4 : W H V L Y

2. Oligonucléotides dégénérés de synthèse correspondant aux motifs conservés
- 30 dans la partie amino terminale de la SU des PTLV

À partir des séquences d'acides aminés des motifs peptidiques conservés identifiés ci-dessus et suivant la correspondance nucléotidique en application du code génétique eucaryote, les inventeurs ont déterminé des séquences nucléotidiques dégénérées (SND) qui ont servi de

base pour la conception d'oligonucléotides de synthèse (OS). Plusieurs critères ont présidé à la conception d'OS correspondants à ces SND :

- Lorsque la multiplication des positions dégénérées dans une SND faisait que la complexité de l'OS correspondant dépasse 512 oligonucléotides dans le mélange de synthèse, la synthèse d'OS supplémentaires pour cette SND est alors effectuée pour lever une partie de cette complexité.

- La synthèse d'un ou 2 OS supplémentaires, dans la limite de 4 OS par SND, est effectuée même pour des complexités inférieures à 512, lorsque ces OS supplémentaires lèvent significativement la complexité de l'OS dégénéré initial.

- Les séquences des OS 5', dont l'élongation par les polymérases d'ADN doit correspondre aux acides aminés situés en aval du motif peptidique considéré (motifs 1 et 2), sont celles du brin ADN (+), alors que celles des OS 3', à partir desquels l'élongation doit correspondre aux acides aminés situés en amont du motif peptidique considéré (motifs 2, 3 et 4), sont celles du brin ADN (-). Les OS correspondants au motif peptidique 2 ont été synthétisés sur les deux brins, pour pouvoir effectuer une élongation dans les deux sens.

- Chaque OS comprend des nucléotides supplémentaires permettant d'introduire en 5' la séquence correspondant à un site de restriction, EcoRI pour les OS5', BamHI pour les OS 3', et dans tous les cas une séquence GGAA 5'-terminale favorisant l'arrimage des polymérases et nucléases en amont du site de restriction.

- Suivant ces critères, les OS PTLVE5' (83 a et b, 140 a à d) et PTLVE3' (145 a à d, 228 a à h, 241 a et b) (pour *Primate T-Leukemia Virus-like Env*), définis ci-dessus ont été synthétisés respectivement pour des élongations en 5' ou 3' du motif ciblé.

### 3. Mise au point des conditions d'amplification avec les oligonucléotidiques sur des séquences témoins

Pour la mise au point de l'amplification de séquences reconnues par les OS décrits ci-dessus, les inventeurs ont utilisé des préparations ADN témoins de plasmide contenant la séquence d'enveloppe HTLV-1 et des préparations témoins dépourvues de cette séquence. La stratégie d'amplification d'ADN qui a été sélectionnée consiste à enchaîner deux réactions d'amplification par un mélange des polymérases Taq et Pwo sur thermocycler dans les conditions dites de "touch-down" et combinant 2 couples d'OS différents.

Les premiers résultats d'amplification probants et reproductibles (amplification spécifiques de séquences HTLV sans amplification sur les préparations témoins) sont ceux obtenus avec la combinaison des OS PTLVE5'83b et PTLVE3'240b, pour la première réaction d'amplification, suivie d'une 2<sup>ème</sup> réaction combinant les OS PTLVE5'83b et PTLVE3'146a sur un échantillon de la 1<sup>ère</sup> réaction. Dans les deux cas les conditions de "touch-down" incluent 15 cycles combinant chacun dénaturation à 94°C suivi d'une étape d'appariement et d'élongation effectuée à la même température, cette température étant comprise pour chaque cycle entre 65 et 50°C avec un pas décroissant de 1°C entre le 1<sup>er</sup> et le 15<sup>e</sup> cycle. Ces 15 cycles sont suivis de 30 cycles classiques d'amplification avec une température d'appariement à 50°C et d'élongation à 72°C.

#### 4. Construction et séquençage d'une banque de fragments amplifiés à partir des réactions d'amplification

Un échantillon de la 2<sup>ème</sup> réaction d'amplification décrite ci-dessus est utilisé pour générer une banque des séquences amplifiées. Pour cela 4 µl sur les 50 µl de la 2<sup>ème</sup> réaction est utilisé pour ligation dans un vecteur de type pCR4-TOPO (Invitrogen) et transformation de bactéries. Entre 10 et 100 colonies résistantes à la kanamycine sont repiquées pour chaque ligation et mises en culture. L'ADN plasmidique de chaque colonie est analysé par séquençage en utilisant des séquences amorces universelles T3 et T7 du vecteur.

## II PREMIERS RESULTATS OBTENUS A PARTIR D'ECHANTILLONS HUMAINS ET DE PRIMATES

Les conditions décrites ci-dessus ont été appliquées à trois types d'échantillons d'ADN :

- Des échantillons d'ADN génomique de "patients séroindéterminés", caractérisés par une sérologie suggérant une infection antérieure par HTLV mais chez lesquels aucun diagnostic définitif n'a pu être établi. Chez ces patients, notamment, une recherche par amplification d'ADN de séquences HTLV *gag*, *pol* ou *tax* sont négatives.

- Des échantillons d'ADN génomique de "patients HTLV-1" chez lesquels une infection HTLV-1 caractéristique a été identifiée.

- Des échantillons d'ADN génomique de singes Mangabey agiles (*Cercocebus Agilis*) qui présentent une sérologie PTLV positive et chez lesquels des séquences Tax HTLV-1 ou STLV-L ont pu être amplifiées.

L'application de la méthode décrite ci-dessus a permis de détecter la présence de séquences de type SU de PTLV chez les trois types d'échantillons, y compris chez les "patients séroindéterminés".

- 5 L'analyse des séquences et de leurs capacités codantes au niveau de la région de SU concernée a permis de faire les observations suivantes:

### **1. Résultats obtenus sur "patients séroindéterminés"**

- En appliquant la méthode décrite ci-dessus sur l'ADN d'un "patient séroindéterminé" (échantillon No. 424), décrit comme ne portant pas de séquence de type HTLV, les inventeurs  
10 ont pourtant pu amplifier et caractériser des séquences de type SU de PTLV.

Au niveau nucléotidique, les séquences identifiées à partir de l'échantillon No. 424 sont de plusieurs types : des séquences HTLV-1 identiques à celles déjà décrites dans la littérature et de nouveaux variants. Au niveau codant, les séquences nucléotidiques se traduisent en trois types de séquences :

- 15 - Des séquences d'acides aminés identiques à celles des souches HTLV-1 déjà connues.  
- Des variants de souches HTLV-1 avec 1 ou 2 résidus jamais décrits auparavant.  
- Des variants de souches HTLV-1 avec 1 ou 2 résidus décrits comme communs aux seules souches HTLV-2 ou STLV-L.

### **20 2. Résultats obtenus sur "patients HTLV-1 typiques"**

Au niveau nucléotidique, les séquences amplifiées à partir de l'échantillon provenant du "patient HTLV-1" (échantillon No.422) sont soit typiquement HTLV-1, telles que déjà décrites dans la littérature, soit des variants avec des répercussions sur la capacité codante. Au  
niveau codant, les séquences nucléotidiques se traduisent en trois types de séquences :

- 25 - Des séquences d'acides aminés identiques aux souches connues HTLV-1.  
- Des variants HTLV-1 avec 1 ou 2 résidus typiques des HTLV-2, combinés ou pas avec des résidus jamais décrits auparavant.  
- Des variants HTLV-2 combinant quelques résidus décrits pour être communs aux seules souches HTLV-2 ou STLV-L, ceci combinés ou pas avec des résidus jamais décrits  
30 auparavant.

### 3. Résultats obtenus sur singes *Cercocebus Agilis*

La méthode de l'invention a aussi permis d'amplifier des séquences de type SU de PTLV chez tous les Mangabey Agiles (*Cercocebus Agilis*) testés qui avaient été identifiés comme séropositifs pour PTLV. Au niveau nucléotidique, les séquences amplifiées à partir de ces singes sont soit celles des isolats déjà décrits auparavant, soit des variants nucléotidiques avec répercussions sur la capacité codante. Au niveau codant, les séquences nucléotidiques se traduisent en trois types de séquences :

- Des séquences d'acides aminés identiques aux souches connues HTLV-1.
- Des séquences d'acides aminés identiques à l'isolat STLV-3/CTO-604 tout récemment décrit chez un Mangabey à tête rouge (*Cercocebus Torquatus*) (Meertens et coll, 2002)
- Des séquences d'acides aminés du type STLV-3/CTO-604 avec 1 ou 2 résidus typiques des HTLV-2

### III. BIBLIOGRAPHIE

1. Battini, J. L., O. Danos, and J. M. Heard. 1995. Receptor-binding domain of murine leukemia virus envelope glycoproteins. *J Virol.* 69(2):713-719.
2. Battini, J. L., J. M. Heard, and O. Danos. 1992. Receptor choice determinants in the envelope glycoproteins of amphotropic, xenotropic, and polytropic murine leukemia viruses. *J Virol.* 66(3):1468-75.
3. Kim, F. J., I. Sciliez, C. Denesvre, D. Lavillette, F. L. Cosset, and M. Sitbon. 2000. Definition of an amino-terminal domain of the human T-cell leukemia virus type 1 envelope surface unit that extends the fusogenic range of an ecotropic murine leukemia virus. *J Biol Chem.* 275(31):23417-20.
4. Lavillette, D., M. Maurice, C. Roche, S. J. Russell, M. Sitbon, and F. L. Cosset. 1998. A proline-rich motif downstream of the receptor binding domain modulates conformation and fusogenicity of murine retroviral envelopes. *J Virol.* 72(12):9955-65.
5. Lavillette, D., A. Ruggieri, S. J. Russell, and F. L. Cosset. 2000. Activation of a cell entry pathway common to type C mammalian retroviruses by soluble envelope fragments. *J Virol.* 74(1):295-304.
6. Meertens, L., R. Mahieux, P. Mauciere, J. Lewis, and A. Gessain. 2002. Complete Sequence of a Novel Highly Divergent Simian T-Cell Lymphotropic Virus from Wild-Caught

Red-Capped Mangabeys (*Cercocebus torquatus*) from Cameroon: a New Primate T-Lymphotropic Virus Type 3 Subtype. *J. Virol.* 76(1):259-268.

7. **Sitbon, M., L. d'Auriol, H. Ellerbrok, C. Andre, J. Nishio, S. Perryman, F. Pozo, S. F. Hayes, K. Wehrly, P. Tambourin, F. Galibert, and B. Chesebro.** 1991. Substitution of  
5 leucine for isoleucine in a sequence highly conserved among retroviral envelope surface glycoproteins attenuates the lytic effect of the Friend murine leukemia virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 88(13):5932-6.

## REVENDICATIONS

1. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés en orientation 5' et 3' issus des séquences nucléotidiques codant pour la région aminoterminal de la composante de surface (SU) des protéines d'enveloppe des virus des lymphomes / leucémies T chez les primates, regroupés sous la désignation PTLV, ces virus étant encore désignés HTLV chez l'homme et STLV chez le singe, à savoir de la région correspondant aux fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, ou de virus portant des séquences apparentées aux SU des PTLV,

pour la mise en œuvre de procédés de détection de toute souche de PTLV, à savoir de toute souche appartenant aux HTLV-1, HTLV-2, STLV-1, STLV-2, et STLV-3, ainsi que de toute souche de virus apparentés aux PTLV, à savoir de toute souche dont la séquence en acides aminés déduite de la séquence nucléotidique codant pour la région aminoterminal de la SU présente un taux d'homologie d'au moins environ 30% avec les séquences en acides aminés codées par les séquences nucléotidiques correspondantes chez les PTLV, notamment pour la détection de nouveaux variants des PTLV, ou de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV, lesdits procédés comprenant une étape d'amplification, à partir d'un échantillon biologique susceptible de contenir des PTLV, et à l'aide des oligonucléotides 5' et 3' dégénérés susmentionnés utilisés en tant qu'amorces, du nombre de copies de fragments nucléotidiques délimités en position 5' par l'oligonucléotide dégénéré en orientation 5', et en position 3' par l'oligonucléotide dégénéré en orientation 3', et une étape d'identification de la souche de PTLV contenue dans l'échantillon biologique à partir des fragments nucléotidiques amplifiés susmentionnés.

2. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon la revendication 1, caractérisée en ce que lesdits oligonucléotides sont choisis parmi ceux comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus des séquences nucléotidiques codant pour des fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou la souche NRA de HTLV-2

représentée par SEQ ID NO : 45, ou la souche de STLV-3 représentée par SEQ ID NO : 47, lesdits oligonucléotides dégénérés comprenant un mélange d'oligonucléotides issus de séquences codant pour une région déterminée d'environ 5 à 10 acides aminés des protéines d'enveloppe des différents souches de PTLV, et qui diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée issue des fragments protéiques des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, ou la souche NRA de HTLV-2, ou la souche de STLV-3 susmentionnées.

10

3. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon la revendication 1 ou 2, comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus de séquences nucléotidiques codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques délimités par les acides aminés situés aux positions 80 à 245, et plus particulièrement aux positions 83 à 241, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43.

15

4. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon l'une des revendications 1 à 3, issus de séquences nucléotidiques codant pour les fragments polypeptidiques 83-88, 140-145, 222-228, et 237-241, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, à savoir les fragments suivants :

20

83-YL/VFPHW-88 SEQ ID NO : 1

140-NFTQ/REV-145 SEQ ID NO : 2

222-NYS/TCI/MVC-228 SEQ ID NO : 3

25

237-WHVLV-241 SEQ ID NO : 4

5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, d'oligonucléotides dégénérés en orientation 5' issus du brin ADN (+) codant pour :

- le fragment polypeptidique 83-88 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de

30

HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (I) suivante :

TAYBTNTTYCCNCAAYTGG (I) SEQ ID NO : 5

dans laquelle :

Y représente C ou T,



B représente C, G ou T,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PTLVE5'83a TAYBTNTTYCCNCACTGG SEQ ID NO : 6

5 PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 7

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

- le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (II) suivante :

AAAYTTYACNCARGARGT (II) SEQ ID NO : 8

10 dans laquelle :

Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

15 PILVES'140a AAAYTTYACNCAAGAAGT SEQ ID NO : 9

PILVES'140b AAAYTTYACNCAGGAAGT SEQ ID NO : 10

PILVES'140c AAAYTTYACNCAAGAGGT SEQ ID NO : 11

PILVES'140d AAAYTTYACNCAGGAGGT SEQ ID NO : 12

Y et N étant tels que définis ci-dessus.

20

6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, d'oligonucléotides dégénérés en orientation 3' issus du brin ADN (-) codant pour :

- le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de

HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (III) suivante :

15 NACYTCYTGNGTRAARTT (III) SEQ ID NO : 13

dans laquelle :

Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

20 telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'145a NACYTCYTGNGTAAAATT SEQ ID NO : 14

PILVE3'145b NACYTCYTGNGTIGAAAATT SEQ ID NO : 15

PILVE3'145c NACYTCYTGNGTAAAGTT SEQ ID NO : 16

PILVE3'145d NACYTCYTGNGTGAAGTT SEQ ID NO : 17

Y et N étant tels que définis ci-dessus,

- le fragment polypeptidique 222-228 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (IV) suivante :

5 RMNACNATRCANSWRTARTT (IV) SEQ ID NO : 18

dans laquelle :

R représente A ou G,

M représente A ou C,

S représente C ou G,

10 W représente A ou T,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'228a RMNACNATRCANSAATAATT SEQ ID NO : 19

PILVE3'228b RMNACNATRCANSAGTAATT SEQ ID NO : 20

5 PILVE3'228c RMNACNATRCANSAATAGIT SEQ ID NO : 21

PILVE3'228d RMNACNATRCANSAGTAGIT SEQ ID NO : 22

PILVE3'228e RMNACNATRCANSTATAATT SEQ ID NO : 23

PILVE3'228f RMNACNATRCANSTGTAATT SEQ ID NO : 24

PILVE3'228g RMNACNATRCANSTATAGIT SEQ ID NO : 25

10 PILVE3'228h RMNACNATRCANSTGTAGIT SEQ ID NO : 26

R, M, S, et N étant tels que définis ci-dessus,

- le fragment polypeptidique 237-241 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (V) suivante :

RTANARNACRTGCCA (V) SEQ ID NO : 27

5 dans laquelle :

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'241a RTANARNACATGCCA SEQ ID NO : 28

0 PILVE3'241b RTANARNACGTGCCA SEQ ID NO : 29

R, et N étant tels que définis ci-dessus.

7. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 6, de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis de telle manière que :

- les oligonucléotides dégénérés 5' correspondent à un mélange d'oligonucléotides 5' issus d'une même région nucléotidique déterminée comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus du brin ADN (+) et codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 135 à 150 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, notamment codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus du fragment protéique délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 83 et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides 5' étant tels qu'ils diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée
  - les oligonucléotides dégénérés 3' correspondent à un mélange d'oligonucléotides 3' issus d'une même région nucléotidique déterminée comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus du brin ADN (-) et codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 125 à 145, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, notamment codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus du fragment protéique délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 140 et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 241 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides 3' étant tels qu'ils diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée
- étant bien entendu que lesdites amorces 5' et 3' susmentionnées ne peuvent pas être complémentaires l'une de l'autre.

8. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que les oligonucléotides dégénérés 5' sont choisis parmi les

oligonucléotides 5' de formules (I) et (II) selon la revendication 5, et en ce que les oligonucléotides dégénérés 3' sont choisis parmi les oligonucléotides 3' de formules (III) à (V) selon la revendication 6.

- 5 9. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon l'une des revendications 1 à 8, lesdits oligonucléotides étant choisis de manière à ce qu'ils permettent l'amplification, à partir d'un échantillon biologique susceptible de contenir de l'ADN de PTLV, de séquences nucléotidiques codant pour des fragments protéiques comprenant une séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 89, et du côté C-terminal par l'acide aminé  
10 situé en position 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou comprenant une séquence analogue comprise dans la protéine d'enveloppe d'une autre souche de PTLV que HTLV-1, telle que la séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 85, et du côté C-terminal par l'acide aminé  
15 situé en position 135 de la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45, ou la séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 88, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé en position 144 de la protéine d'enveloppe de la souche de STL-3 représentée par SEQ ID NO : 47.

- 10 10. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon la revendication 9, caractérisée en ce que les oligonucléotides dégénérés 5' sont choisis parmi les oligonucléotides 5' de formule (I) selon la revendication 5, et en ce que les oligonucléotides dégénérés 3' sont choisis parmi les oligonucléotides 3' de formules (III) à (V) selon la revendication 6.

- 15 11. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon la revendication 9 ou 10, caractérisée en ce que :

- les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :

PTLVB5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5

Y, B et N étant tels que définis dans la revendication 5,

- les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (III) suivante :

0 PTLVE3'145a NACYTCYTCNGTAAATTT SEQ ID NO : 14

Y et N étant tels que définis dans la revendication 6.

12. Oligonucléotides tels que définis dans l'une des revendications 1 à 6.

13. Oligonucléotides selon la revendication 12, correspondants :

- aux oligonucléotides dégénérés en orientation 5' issus du brin ADN (+) codant pour :

- 5 \* le fragment polypeptidique 83-88 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (I) suivante :

TAYBTNTTYCCNCAYTGG (I) SEQ ID NO : 5

dans laquelle :

Y représente C ou T,

B représente C, G ou T,

- 10 N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PTLVE5'83a TAYBTNTTYCCNCACTGG SEQ ID NO : 6

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 7

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

- 15 \* le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (II) suivante :

AAYYTYACNCARGARGT (II) SEQ ID NO : 8

dans laquelle :

- 20 Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PTLVE5'140a AAYTTYACNCAAGAAGT SEQ ID NO : 9

- 25 PTLVE5'140b AAYTTYACNCAGGAAGT SEQ ID NO : 10

PTLVE5'140c AAYTTYACNCAAGAGGT SEQ ID NO : 11

PTLVE5'140d AAYTTYACNCAGGAGGT SEQ ID NO : 12

Y et N étant tels que définis ci-dessus,

- 30 - aux oligonucléotides dégénérés en orientation 3' issus du brin ADN (-) codant pour :

\* le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (III) suivante :

NACYTCYTGNGTRAARTT

(III)

SEQ ID NO : 13

dans laquelle :

Y représente C ou T,

R représente A ou G,

5 N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PTLVE3'145a NACYTCYTGNGTAAAATT SEQ ID NO : 14

PTLVE3'145b NACYTCYTGNGTGAAATT SEQ ID NO : 15

PTLVE3'145c NACYTCYTGNGTAAAGTT SEQ ID NO : 16

0 PTLVE3'145d NACYTCYTGNGTGAAAGTT SEQ ID NO : 17

Y et N étant tels que définis ci-dessus,

\* le fragment polypeptidique 222-228 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (IV) suivante :

5 RMNACNATRCANSWRTARTT

(IV) SEQ ID NO : 18

dans laquelle :

R représente A ou G,

M représente A ou C,

S représente C ou G,

0 W représente A ou T,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PTLVE3'228a RMNACNATRCANSAATAATT SEQ ID NO : 19

PTLVE3'228b RMNACNATRCANSAGTAATT SEQ ID NO : 20

5 PTLVE3'228c RMNACNATRCANSAATAGIT SEQ ID NO : 21

PTLVE3'228d RMNACNATRCANSAGTAGIT SEQ ID NO : 22

PTLVE3'228e RMNACNATRCANSTATAATT SEQ ID NO : 23

PTLVE3'228f RMNACNATRCANSTGTAATT SEQ ID NO : 24

PTLVE3'228g RMNACNATRCANSTATAGIT SEQ ID NO : 25

0 PTLVE3'228h RMNACNATRCANSTGTAGIT SEQ ID NO : 26

R, M, S, et N étant tels que définis ci-dessus,

\* le fragment polypeptidique 237-241 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (V) suivante :

RTANARNACRTGCCA (V) SEQ ID NO : 27

dans laquelle :

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PTLVE3'241a RTANARNACATGCCA SEQ ID NO : 28

PTLVE3'241b RTANARNACGTGCCA SEQ ID NO : 29

R, et N étant tels que définis ci-dessus.

14. Procédé de détection de toute souche de PTLV, à savoir de toute souche appartenant aux HTLV-1, HTLV-2, STLV-1, STLV-2, et STLV-3, ainsi que de toute souche de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV, telles que définies dans la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend :

- la mise en contact d'un couple d'oligonucléotides dégénérés 5' et 3' tels que définis dans l'une des revendications 1 à 13, avec l'ADN génomique ou l'ADN complémentaire dérivé à partir d'ARN extraits du contenu d'un échantillon biologique (tels que cellules sanguines, de moelle osseuse, biopsies, notamment de peau ou autres organes, ou frottis) susceptible de contenir des PTLV tels que définis ci-dessus,

- l'amplification de fragments d'ADN codant pour un fragment des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV tel que défini dans la revendication 1 ou 9,

- la détection des fragments d'ADN amplifiés lors de l'étape précédente, cette détection pouvant être corrélée à la détection et le cas échéant à l'identification de PTLV tels que définis ci-dessus dans ledit échantillon biologique.

15. Procédé de détection de toute souche de PTLV selon la revendication 14, caractérisé en ce que l'étape d'amplification comprend la mise en œuvre de deux réactions d'amplification, la deuxième réaction étant effectuée sur un échantillon de produits obtenus dans le cadre de la première réaction à l'aide des mêmes oligonucléotides 5' que dans le cas de la première réaction, et d'oligonucléotides 3' différents de ceux utilisés dans la première réaction, à savoir des amorces 3' dites « nichées » hybridant avec une région située plus en

amont de la séquence codant pour la SU que les amorces 3' utilisées dans la première réaction.

16. Procédé de détection de toute souche de PTLV selon la revendication 14 ou 15, caractérisé en ce qu'il comprend :

- une première réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis parmi les couples :

\* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (IV), ou

\* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (V), ou

\* oligonucléotides de formule (II)/oligonucléotides de formule (V),

- et une deuxième étape d'amplification du nombre de copies de fragments d'ADN obtenus lors de l'étape précédente à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis respectivement parmi les couples :

\* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (III), ou

\* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (III ou IV), ou

\* oligonucléotides de formule (II)/oligonucléotides de formule (IV),

- la détection des fragments d'ADN amplifiés lors de l'étape précédente, cette détection pouvant être corrélée à la détection et le cas échéant à l'identification de PTLV dans l'échantillon biologique.

17. Procédé de détection de toute souche de PTLV selon l'une des revendications 14 à 16, caractérisé en ce qu'il comprend :

- une première réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis de telle manière que :

\* les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :

PTLVB5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5

Y, B et N étant tels que définis dans la revendication 5,

\* les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (V) suivante :

PTLVB3'241b RTANARNACGTGCCA SEQ ID NO : 29

R, et N étant tels que définis dans la revendication 6,

- une deuxième réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis de telle manière que :

\* les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :



PTLVES'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG

SEQ ID NO : 5

Y, B et N étant tels que définis dans la revendication 5,

\* les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (III) suivante :

PTLVES'145a NACYTCYTGNGTAAATTT

SEQ ID NO : 14

5 Y et N étant tels que définis dans la revendication 6.

18. Trousse ou kit pour la mise en œuvre d'un procédé de détection selon l'une des revendications 14 à 17, caractérisé en ce qu'il comprend un couple d'amorces tel que défini dans l'une des revendications 1 à 13, et, le cas échéant, les réactifs nécessaires à la mise en œuvre de la réaction d'amplification par PCR et pour la détection des fragments amplifiés.

19. Application du procédé de détection selon l'une des revendications 14 à 17 :

- au diagnostic de pathologies liées à une infection par un PTLV, ou par un virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV, chez l'homme ou l'animal, telles que les hémopathies, les maladies auto-immunes, les maladies inflammatoires, les maladies dégénératives,

- au criblage et à l'identification de nouveaux agents infectieux chez l'homme ou l'animal, et plus particulièrement de nouvelles souches, ou variants, de virus susceptibles d'être classés dans les PTLV, ou de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV,

- au criblage de gènes de prédisposition ou de résistance à des pathologies chez l'homme ou l'animal liées à la présence des PTLV ou de séquences apparentées, ou à une infection par un PTLV, telles que les hémopathies, les maladies auto-immunes, les maladies dégénératives,

- au criblage ou à la conception de nouveaux agents thérapeutiques comprenant des séquences entières ou partielles des protéines d'enveloppe de nouveaux variants de PTLV ainsi détectés,

- au criblage ou à la conception de nouveaux vecteurs de thérapie cellulaire utilisant les propriétés de tropisme des séquences entières ou partielles des protéines d'enveloppe de nouveaux variants de PTLV ainsi détectés.

20. Variants de type HTLV-1 tels qu'obtenus par mise en œuvre d'un procédé de détection selon l'une des revendications 14 à 17, correspondants :

- au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 31 suivante :

I K K P N P N G G Y Y L A S Y S D  
P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y  
5 T G A V S S P Y W K F Q Q D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu arginine (R) en position 94, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu proline (P) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 30 suivante :

ATT AAA AAG CCA AAC CCA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
15 ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 281, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par C, T, et A indiqués en gras et soulignés.

- au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 33 suivante :

V K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D  
P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y  
T G A V S S P Y W K F Q Q D V  
25

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu isoleucine (I) en position 89, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu valine (V) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 32 suivante :

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle A en position 266, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par G, T, et A indiqués en gras et soulignés.

- 5 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 35 suivante :

```
I  K  K  P  N  R  N  G  G  G  Y  Y  L  A  S  Y  S  D
P  C  S  L  K  C  P  Y  L  G  C  Q  S  W  T  C  P  Y
T  G  A  V  S  S  P  Y  W  K  F  Q  Q  D  V
```

- 10 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu sérine (S) en position 101, est remplacé par un résidu leucine (L) indiqué en gras et souligné,

- et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle  
15 comprend la séquence SEQ ID NO : 34 suivante :

```
ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAA CAA GAT GTC
```

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés  
20 aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle C en position 302, G en position 333, et G en position 408, sont respectivement remplacés par T, A, et A indiqués en gras et soulignés.

- au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 37 suivante :

- 25 I K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D  
P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y  
T G P V S S P Y W K F Q Q D V

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés  
aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans  
30 laquelle le résidu alanine (A) en position 127, est remplacé par un résidu proline (P) indiqué en gras et souligné,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle  
comprend la séquence SEQ ID NO : 36 suivante :

- GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
35 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT

ACA GGA CCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 379, est remplacé par C indiqué en gras et souligné,

- 5 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 39 suivante :

I K K P N R N G G G Y H S A S Y S D P  
C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y A G  
A V S S P Y W K F Q Q D V N F T Q E V

- 10 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu tyrosine (Y) en position 100, et le résidu thréonine (T) en position 125, sont respectivement remplacés par un résidu histidine (H) et un résidu alanine (A) indiqués en gras et soulignés,

- 15 et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 38 suivante :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT CAT TCA GCC TCT TAT TCA  
GAC CCT TGT TCC TTA AAG TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC  
CCC TAT GCA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

- 20 AAT TTT ACC CAG GAA GTA

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 435 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle T en position 298, A en position 373, T en position 426, A en position 429, et T en position 435, sont respectivement remplacés par C, G, C, G, et A indiqués en gras et soulignés.

21. Variant de type HTLV-2 tel qu'obtenu par mise en œuvre d'un procédé de détection selon la revendication 14, caractérisé en ce que:

- sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 41 suivante :

I R K P N R Q G L G Y Y S P S Y N D  
P C S L Q C P Y L G S Q S W T C P Y  
T A P V S T P S W N F H S D V

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 85 à 135 de la protéine d'enveloppe de la souche prototype NRA de HTLV-2

(décrite par Lee et al., 1993. Virology 196, 57-69 ; n° d'accès Genbank L20734.1), dans laquelle les résidus lysine (K) en position 86, cystéine (C) en position 113, glycine (G) en position 122, sérine (S) en position 126, et lysine (K) en position 130, sont respectivement remplacés par les résidus arginine (R), sérine (S), alanine (A), thréonine (T), et asparagine (N) indiqués en gras et soulignés,

- la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 40 suivante :

ATA AGA AAG CCA AAC AGA CAG GGC CTA GGG TAC TAC TCG CCT TCC TAC AAT GAC  
CCT TGC TCG CTA CAA TGC CCC TAC TTG GGC TCC CAA TCA TGG ACA TGC CCA TAC  
10 ACG GCC CCC GTC TCC ACT CCA TCC TGG AAT TTT CAT TCA GAT GTA

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 253 à 405 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2, dans laquelle A en position 257, G en position 258, T en position 267, A en position 282, C en position 294, T en position 300, A en position 333, G en position 338, G en position 365, G en position 377, G en position 390, et C en position 396, sont respectivement remplacés par G, A, C, G, T, C, G, C, C, T, et T indiqués en gras et soulignés.

22. Polypeptides délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45, ou de la souche de STLTV-3 représentée par SEQ ID NO : 47, ou de virus portant des séquences apparentées aux SU des PTLV, ou délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 135 à 150 desdites protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV.

23. Polypeptides selon la revendication 22, choisis parmi :

- le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 83 ou 89, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 139 ou 145, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43,

- le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 79 ou 85, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 135 ou 141, de la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45,

- le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 82 ou 88, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 138 ou 144, de la protéine d'enveloppe de la souche de STLV-3 représentée par SEQ ID NO : 47.

- 5           24. Polypeptides codés par les fragments d'ADN amplifiés dans le cadre du procédé de détection selon la revendication 14, des variants de type HTLV-1 à HTLV-2 selon l'une des revendications 17 à 21, caractérisés en ce qu'ils comprennent les séquences peptidiques suivantes :

- polypeptide 1 (SEQ ID NO : 31) :

10   I   K   K   P   N   P   N   G   G   G   Y   Y   L   A   S   Y   S   D  
      P   C   S   L   K   C   P   Y   L   G   C   Q   S   W   T   C   P   Y  
      T   G   A   V   S   S   P   Y   W   K   F   Q   Q   D   V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu arginine (R) en position 94, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu proline (P) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

- polypeptide 2 (SEQ ID NO : 33):

20   V   K   K   P   N   R   N   G   G   G   Y   Y   L   A   S   Y   S   D  
      P   C   S   L   K   C   P   Y   L   G   C   Q   S   W   T   C   P   Y  
      T   G   A   V   S   S   P   Y   W   K   F   Q   Q   D   V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu isoleucine (I) en position 89, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu valine (V) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

- polypeptide 3 (SEQ ID NO : 35):

30   I   K   K   P   N   R   N   G   G   G   Y   Y   L   A   S   Y   S   D  
      P   C   S   L   K   C   P   Y   L   G   C   Q   S   W   T   C   P   Y  
      T   G   A   V   S   S   P   Y   W   K   F   Q   Q   D   V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu sérine (S) en position 101, est remplacé par un résidu leucine (L) indiqué en gras et souligné.

- 35           - polypeptide 4 (SEQ ID NO : 37):

I	K	K	P	N	R	N	G	G	G	Y	Y	L	A	S	Y	S	D
P	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
T	G	<u>P</u>	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V			

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu alanine (A) en position 127, est remplacé par un résidu proline (P) indiqué en gras et souligné,

- polypeptide 5 (SEQ ID NO : 39) :

I	K	K	P	N	R	N	G	G	G	Y	<u>H</u>	S	A	S	Y	S	D
10	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
	A	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V	N	F	T	Q

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu tyrosine (Y) en position 100, et le résidu thréonine (T) en position 125, sont respectivement remplacés par un résidu histidine (H) et un résidu alanine (A) indiqués en gras et soulignés,

- polypeptide 6 (SEQ ID NO : 41) :

I	<u>R</u>	K	P	N	R	Q	G	L	G	Y	Y	S	P	S	Y	N	D
P	C	S	L	Q	C	P	Y	L	G	<u>S</u>	Q	S	W	T	C	P	Y
20	T	<u>A</u>	P	V	S	<u>T</u>	P	S	W	<u>N</u>	F	H	S	D	V		

- à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 85 à 135 de la protéine d'enveloppe de la souche prototype NRA de HTLV-2, dans laquelle les résidus lysine (K) en position 86, cystéine (C) en position 113, glycine (G) en position 122, sérine (S) en position 126, et lysine (K) en position 130, sont respectivement remplacés par les résidus arginine (R), sérine (S), alanine (A), thréonine (T), et asparagine (N) indiqués en gras et soulignés.

25. Acides nucléiques caractérisés en ce qu'ils codent pour un polypeptide selon l'une des revendications 22 à 24.

30

26. Acides nucléiques selon la revendication 25, comprenant les séquences nucléotidiques suivantes :

- acide nucléique 1 a (SEQ ID NO : 30):

ATT	AAA	AAG	CCA	AAC	<u>C</u> CA	AAT	GGC	GGA	GGC	TAT	TAT	TTA	GCC	TCT	TAT	TCA	GAC
35	CCT	TGT	TCC	TTA	<u>AAA</u>	TGC	CCA	TAC	CTG	GGG	TGC	CAA	TCA	TGG	ACC	TGC	CCC

ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 281, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par C, T, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 1 selon la revendication 24,

- acide nucléique 2 a (SEQ ID NO : 32):

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle A en position 266, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par G, T, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 2 la revendication 24,

- acide nucléique 3 a (SEQ ID NO : 34) :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAA CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle C en position 302, G en position 333, et G en position 408, sont respectivement remplacés par T, A, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 3 la revendication 24,

- acide nucléique 4 a (SEQ ID NO : 36):

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC  
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT  
ACA GGA CCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 379, est remplacé par C indiqué en gras et souligné,



ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 4 selon la revendication 24,

- acide nucléique 5 a (SEQ ID NO : 38) :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT CAT TCA GCC TCT TAT TCA  
 5 GAC CCT TGT TCC TTA AAG TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC  
 CCC TAT GCA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC  
 AAT TTT ACC CAG GAA GTA

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 435 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-  
 10 2 de HTLV-1, dans laquelle T en position 298, A en position 373, T en position 426, A en position 429, et T en position 435, sont respectivement remplacés par C, G, C, G, et A indiqués en gras et soulignés.

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 5 selon la revendication 24,

15 - acide nucléique 6 a (SEQ ID NO : 40):

ATA AGA AAG CCA AAC AGA CAG GGC CTA GGG TAC TAC TCG CCT TCC TAC AAT GAC  
 CCT TGC TCG CTA CAA TGC CCC TAC TTG GGC TCC CAA TCA TGG ACA TGC CCA TAC  
 ACG GCC CCC GTC TCC ACT CCA TCC TGG AAT TTT CAT TCA GAT GTA

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 253 à 405 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche NRA  
 20 de HTLV-2, dans laquelle A en position 257, G en position 258, T en position 267, A en position 282, C en position 294, T en position 300, A en position 333, G en position 338, G en position 365, G en position 377, G en position 390, et C en position 396, sont respectivement remplacés par G, A, C, G, T, C, G, C, C, T, et T indiqués en gras et soulignés,

25 ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 6 selon la revendication 24.

27. Anticorps polyclonaux ou monoclonaux dirigés contre un variant selon la revendication 20 ou 21, ou contre un polypeptide selon l'une des revendications 22 à 24, tels  
 30 qu'obtenus par immunisation d'un animal approprié avec un polypeptide susmentionné.

28. Composition pharmaceutique, notamment vaccins ou vecteurs thérapeutiques, comprenant, un polypeptide selon l'une des revendications 22 à 24, ou un acide nucléique

selon la revendication 25 ou 26, ou des anticorps selon la revendication 27, le cas échéant en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

## LISTE DE SEQUENCES

<110> CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

<120> OLIGONUCLEOTIDES ISSUS DES SEQUENCES CODANT POUR  
LA COMPOSANTE DE SURFACE DES PROTEINES D'ENVELOPPE  
DES PTLV ET LEURS UTILISATIONS

<130> IFB 02 BC CNR PTLV

<140> FR 02/05001

<141> 2002-04-22

<160> 47

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (2)..(2)  
<223> L ou V

<400> 1  
Tyr Xaa Phe Pro His Trp  
1 5

<210> 2  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> Q ou R

<400> 2  
Asn Phe Thr Xaa Glu Val  
1 5

<210> 3  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> S ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (5)..(5)  
<223> I ou M

&lt;400&gt; 3

Asn Tyr Xaa Cys Xaa Val Cys

1 5

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human T-cell lymphotropic virus type 1

&lt;400&gt; 4

Trp His Val Leu Tyr

1 5

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; séquence artificielle

&lt;220&gt;

<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant  
au fragment polypeptidique 83-88 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (3)..(3)

&lt;223&gt; C ou T

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (4)..(4)

&lt;223&gt; C, G ou T

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (6)..(6)

&lt;223&gt; A, C, G ou T

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (9)..(9)

&lt;223&gt; C ou T

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (12)..(12)

&lt;223&gt; A, C, G ou T

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (15)..(15)

&lt;223&gt; C ou T

&lt;400&gt; 5

tanntnttnc ncncantgg

18

&lt;210&gt; 6

<211> 18  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant  
au fragment polypeptidique 83-88 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(9)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)..(12)  
<223> A, C, G ou T

<400> 6  
tanntnttnc cncactgg

18

<210> 7  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant  
au fragment polypeptidique 83-88 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)

<223> A, C, G ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (9)..(9)

<223> C ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (12)..(12)

<223> A, C, G ou T

<400> 7

tanntnttnc cncattgg

18

<210> 8

<211> 17

<212> ADN

<213> séquence artificielle

<220>

<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant  
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (3)..(3)

<223> C ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (6)..(6)

<223> C ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (9)..(9)

<223> A, C, G ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (12)..(12)

<223> A ou G

<220>

<221> misc\_feature

<222> (15)..(15)

<223> A ou G

<400> 8

aanttnacnc angangt

17

<210> 9

<211> 17

<212> ADN

<213> séquence artificielle

<220>

<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant  
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(9)  
<223> A, C, G ou T

<400> 9  
aanttnacnc aagaagt

17

<210> 10  
<211> 17  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant  
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(9)  
<223> A, C, G ou T

<400> 10  
aanttnacnc aggaagt

17

<210> 11  
<211> 17  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant  
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(9)  
<223> A, C, G ou T

<400> 11  
aanttnacnc aagaggt

17

<210> 12  
<211> 17  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant  
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(9)  
<223> A, C, G ou T

<400> 12  
aanttnacnc aagaggt

17

<210> 13  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature



<222> (1)..(1)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (7)..(7)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (10)..(10)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (13)..(13)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (16)..(16)  
<223> A ou G

<400> 13  
nacntcntgn gtnaantt

18

<210> 14  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (7)..(7)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (10)..(10)  
<223> A, C, G ou T

<400> 14  
nacntcntgn gtaaaatt

18

<210> 15  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (7)..(7)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (10)..(10)  
<223> A, C, G ou T

<400> 15  
nacntcntgn gtgaaatt

18

<210> 16  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature

<222> (7)..(7)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (10)..(10)  
<223> A, C, G ou T

<400> 16  
nacntcntgn gtaaagtt

18

<210> 17  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (7)..(7)  
<223> C ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (10)..(10)  
<223> A, C, G ou T

<400> 17  
nacntcntgn gtgaagtt

18

<210> 18  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A ou G

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (2)..(2)  
 <223> A ou C

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)..(3)  
 <223> A, C, G ou T

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)..(6)  
 <223> A, C, G ou T

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)..(9)  
 <223> A ou G

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (12)..(12)  
 <223> A, C, G ou T

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (13)..(13)  
 <223> C ou G

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (14)..(14)  
 <223> A ou T

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (15)..(15)  
 <223> A ou G

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)..(18)  
 <223> A ou G

<400> 18  
 nnnacnatnc annwntantt

20

<210> 19  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> séquence artificielle

<220>  
 <223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
 au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine  
 d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
 <221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> A ou G

<220>

<221> misc\_feature

<222> (2)..(2)

<223> A ou C

<220>

<221> misc\_feature

<222> (3)..(3)

<223> A, C, G ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (6)..(6)

<223> A, C, G ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (9)..(9)

<223> A ou G

<220>

<221> misc\_feature

<222> (12)..(12)

<223> A, C, G ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (13)..(13)

<223> C ou G

<400> 19

nnnacnatnc annaataatt

20

<210> 20

<211> 20

<212> ADN

<213> séquence artificielle

<220>

<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> A ou G

<220>

<221> misc\_feature

<222> (2)..(2)

<223> A ou C

<220>

<221> misc\_feature

<222> (3)..(3)

<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(9)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)..(12)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (13)..(13)  
<223> C ou G

<400> 20  
nnnacnatnc annagtaatt

20

<210> 21  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (2)..(2)  
<223> A ou C

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(9)  
<223> A ou G

<220>

<221> misc\_feature  
<222> (12)..(12)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (13)..(13)  
<223> C ou G

<400> 21  
nnnacnatnc annaatagtt

20

<210> 22  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (2)..(2)  
<223> A ou C

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(9)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)..(12)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (13)..(13)  
<223> C ou G

<400> 22  
nnnacnatnc annagtagtt

20

<210> 23  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (2)..(2)  
<223> A ou C

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (5)..(5)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(9)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)..(12)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (13)..(13)  
<223> C ou G

<400> 23  
nnnācnatnc anntataatt

<210> 24  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>



<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (2)..(2)  
<223> A ou C

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (9)..(9)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)..(12)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (13)..(13)  
<223> C ou G

<400> 24  
nnnacnataac anntgtaatt

20

<210> 25  
<211> 20  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (2)..(2)  
<223> A ou C

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)

<223> A, C, G ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (6)..(6)

<223> A, C, G ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (9)..(9)

<223> A ou G

<220>

<221> misc\_feature

<222> (12)..(12)

<223> A, C, G ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (13)..(13)

<223> C ou G

<400> 25

nnnacnattnc anntatagtt

20

<210> 26

<211> 20

<212> ADN

<213> séquence artificielle

<220>

<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(1)

<223> A ou G

<220>

<221> misc\_feature

<222> (2)..(2)

<223> A ou C

<220>

<221> misc\_feature

<222> (3)..(3)

<223> A, C, G ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (6)..(6)

<223> A, C, G ou T

<220>

<221> misc\_feature

<222> (9)..(9)

<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)..(12)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (13)..(13)  
<223> C ou G

<400> 26  
nnnacnatnc anntgtagtt

20

<210> 27  
<211> 15  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 237-241 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (7)..(7)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (10)..(10)  
<223> A ou G

<400> 27  
ntanannacn tgcca

15

<210> 28  
<211> 15  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 237-241 de la protéine

d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (7)..(7)  
<223> A, C, G ou T

<400> 28  
ntanannaca tgcca

15

<210> 29  
<211> 15  
<212> ADN  
<213> séquence artificielle

<220>  
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant  
au fragment polypeptidique 237-241 de la protéine  
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(1)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(4)  
<223> A, C, G ou T

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (6)..(6)  
<223> A ou G

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (7)..(7)  
<223> A, C, G ou T

<400> 29  
ntanannacg tgcca

15

<210> 30

```

<211> 153
<212> ADN
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(153)
<223>

<400> 30
att aaa aag cca aac cca aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tct tat      48
ile lys lys pro asn pro asn gly gly tyr tyr leu ala ser tyr
1      5      10      15

tca gac oct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg      96
ser asp pro cys ser leu lys cys pro tyr leu gly cys gln ser trp
      20      25      30

acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag      144
thr cys pro tyr thr gly ala val ser ser pro tyr trp lys phe gln
      35      40      45

caa gat gtc      153
gln asp val
50

<210> 31
<211> 51
<212> PRT
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 31
ile lys lys pro asn pro asn gly gly gly tyr tyr leu ala ser tyr
1      5      10      15

ser asp pro cys ser leu lys cys pro tyr leu gly cys gln ser trp
      20      25      30

thr cys pro tyr thr gly ala val ser ser pro tyr trp lys phe gln
      35      40      45

gln asp val
50

<210> 32
<211> 153
<212> ADN
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(153)
<223>

<400> 32
gtt aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tct tat      48
val lys lys pro asn arg asn gly gly gly tyr tyr leu ala ser tyr
1      5      10      15

```

20/32

tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg	96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp	
20 25 30	

acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag	144
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln	
35 40 45	

caa gat gtc	153
Gln Asp Val	
50	

<210> 33  
 <211> 51  
 <212> PRT  
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 33	
Val Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr	
1 5 10 15	

Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp	
20 25 30	

Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln	
35 40 45	

Gln Asp Val	
50	

<210> 34  
 <211> 153  
 <212> ADN  
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(153)  
 <223>

<400> 34	
att aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tot tat	48
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr	
1 5 10 15	

tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg	96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp	
20 25 30	

acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt caa	144
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln	
35 40 45	

caa gat gtc	153
Gln Asp Val	
50	

<210> 35

<211> 51  
 <212> PRT  
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 35  
 Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 1 5 10 15  
 Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp  
 20 25 30  
 Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln  
 35 40 45  
 Gln Asp Val  
 50

<210> 36  
 <211> 153  
 <212> ADN  
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(153)  
 <223>

<400> 36  
 gtt aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tct tat 48  
 Val Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 1 5 10 15  
 tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg 96  
 Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp  
 20 25 30  
 acc tgc ccc tat aca gga ccc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag 144  
 Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln  
 35 40 45  
 caa gat gtc 153  
 Gln Asp Val  
 50

<210> 37  
 <211> 51  
 <212> PRT  
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 37  
 Val Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 1 5 10 15  
 Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp  
 20 25 30  
 Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln  
 35 40 45

Gln Asp Val  
50

<210> 38  
<211> 171  
<212> ADN  
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(171)  
<223>

<400> 38  
att aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat cat tca gcc tct tat 48  
ile lys lys pro asn arg asn gly gly gly tyr his ser ala ser tyr  
1 5 10 15  
tca gac cct tgt tcc tta aag tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg 96  
ser asp pro cys ser leu lys cys pro tyr leu gly cys gln ser trp  
20 25 30  
acc tgc ccc tat gca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag 144  
thr cys pro tyr ala gly ala val ser ser pro tyr trp lys phe gln  
35 40 45  
caa gat gtc aat ttt acc cag gaa gta 171  
gln asp val asn phe thr gln glu val  
50 55

<210> 39  
<211> 57  
<212> PRT  
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 39  
ile lys lys pro asn arg asn gly gly gly tyr his ser ala ser tyr  
1 5 10 15  
ser asp pro cys ser leu lys cys pro tyr leu gly cys gln ser trp  
20 25 30  
thr cys pro tyr ala gly ala val ser ser pro tyr trp lys phe gln  
35 40 45  
gln asp val asn phe thr gln glu val  
50 55

<210> 40  
<211> 153  
<212> ADN  
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 2



&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(153)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 40

ata aga aag cca aac aga cag ggc cta ggg tac tac tgc cct tcc tac 48

Ile Arg Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr Ser Pro Ser Tyr

1 5 10 15

aat gac cct tgc tgc cta caa tgc ccc tac ttg ggc tcc caa tca tgg 96

Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly Ser Gln Ser Trp

20 25 30

aca tgc cca tac acg gcc ccc gtc tcc act cca tcc tgg aat ttt cat 144

Thr Cys Pro Tyr Thr Ala Pro Val Ser Thr Pro Ser Trp Asn Phe His

35 40 45

tca gat gta 153

Ser Asp Val

50

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 51

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human T-cell lymphotropic virus type 2

&lt;400&gt; 41

Ile Arg Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr Ser Pro Ser Tyr

1 5 10 15

Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly Ser Gln Ser Trp

20 25 30

Thr Cys Pro Tyr Thr Ala Pro Val Ser Thr Pro Ser Trp Asn Phe His

35 40 45

Ser Asp Val

50

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 924

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Human T-cell lymphotropic virus type 1

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(924)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 42

atg ggt aag ttt ctc gcc act ttg att tta ttc ttc cag ttc tgc ccc 48

Met Gly Lys Phe Leu Ala Thr Leu Ile Leu Phe Phe Gln Phe Cys Pro

1 5 10 15

ctc atc ctc ggt gat tac agc ccc agc tgc tgt act ctc aca att gga 96

Leu Ile Leu Gly Asp Tyr Ser Pro Ser Cys Cys Thr Leu Thr Ile Gly

20 25 30



25/32

Trp Thr His Cys Phe Asp Pro Gln Ile Gln Ala Ile Val Ser Ser Pro  
 275 280 285

tgt cat aac tcc ctc atc ctg ccc ccc ttt tcc ttg tca cct gtt ccc 912  
 Cys His Asn Ser Leu Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Val Pro  
 290 295 300

acc cta gga tcc 924  
 Thr Leu Gly Ser  
 305

<210> 43  
 <211> 308  
 <212> PRT  
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 43

Met Gly Lys Phe Leu Ala Thr Leu Ile Leu Phe Phe Gln Phe Cys Pro  
 1 5 10 15

Leu Ile Leu Gly Asp Tyr Ser Pro Ser Cys Cys Thr Leu Thr Ile Gly  
 20 25 30

Val Ser Ser Tyr His Ser Lys Pro Cys Asn Pro Ala Gln Pro Val Cys  
 35 40 45

Ser Trp Thr Leu Asp Leu Leu Ala Leu Ser Ala Asp Gln Ala Leu Gln  
 50 55 60

Pro Pro Cys Pro Asn Leu Val Ser Tyr Ser Ser Tyr His Ala Thr Tyr  
 65 70 75 80

Ser Leu Tyr Leu Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly  
 85 90 95

Gly Gly Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys  
 100 105 110

Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val  
 115 120 125

Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln Gln Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu  
 130 135 140

Val Ser Arg Leu Asn Ile Asn Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Phe Pro  
 145 150 155 160

Phe Ser Leu Leu Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Ile Trp Phe Leu  
 165 170 175

Asn Thr Glu Pro Ser Gln Leu Pro Pro Thr Ala Pro Pro Leu Leu Pro  
 180 185 190

His Ser Asn Leu Asp His Ile Leu Glu Pro Ser Ile Pro Trp Lys Ser  
 195 200 205

Lys Leu Leu Thr Leu Val Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Thr  
 210 215 220

Cys Ile Val Cys Ile Asp Arg Ala Ser Leu Ser Thr Trp His Val Leu  
 225 230 235 240

Tyr Ser Pro Asn Val Ser Val Pro Ser Ser Ser Thr Pro Leu Leu  
 245 250 255

Tyr Pro Ser Leu Ala Leu Pro Ala Pro His Leu Thr Leu Pro Phe Asn  
 260 265 270

Trp Thr His Cys Phe Asp Pro Gln Ile Gln Ala Ile Val Ser Ser Pro  
 275 280 285

Cys His Asn Ser Leu Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Val Pro  
 290 295 300

Thr Leu Gly Ser  
 305

<210> 44  
 <211> 912  
 <212> ADN  
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 2

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(912)  
 <223>

<400> 44  
 atg ggt aac gtt ttc ttc cta ctt tta ttc agt ctc aca cac ttc cca 48  
 Met Gly Asn Val Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Thr His Phe Pro  
 1 5 10 15

cca gtc cag cag agc cga tgc aca ctc acg gtt ggt att tcc tcc tac 96  
 Pro Val Gln Gln Ser Arg Cys Thr Leu Thr Val Gly Ile Ser Ser Tyr  
 20 25 30

cac tcc agc ccc tgt agc cca acc caa ccc gtc tgc acg tgg aac ctc 144  
 His Ser Ser Pro Cys Ser Pro Thr Gln Pro Val Cys Thr Trp Asn Leu  
 35 40 45

gac ctt aat tcc cta acg acg gac cag cga cta cat ccc ccc tgc cct	192
Asp Leu Asn Ser Leu Thr Ser Gly Phe His Lys Thr Tyr Ser Leu Thr	
50 55 60	
aac cta att act tac tct ggc ttc cac aaa act tat tcc tta tac tta	240
Asn Leu Ile Thr Tyr Ser Gly Phe His Lys Thr Tyr Ser Leu Tyr Leu	
65 70 75 80	
ttc cca cat tgg ata aag aag cca aat aga cag ggc cta gga tac tac	288
Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr	
85 90 95	
tgc ccc tcc tat aat gac cct tgc tgc cta caa tgc ccc tac tta ggc	336
Ser Pro Ser Tyr Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly	
100 105 110	
tgc caa tca tgg aca tgc cca tac acg ggc ccc gtc tcc agt cca tcc	384
Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Ser	
115 120 125	
tgg aag ttt cac tca gat gta aat ttc acc caa gaa gtc agc caa gtg	432
Trp Lys Phe His Ser Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val Ser Gln Val	
130 135 140	
tcc ctt cga cta cac ttc tct aag tgc ggc tcc tcc atg acc ctt cta	480
Ser Leu Arg Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Ser Ser Met Thr Leu Leu	
145 150 155 160	
gta gat gcc cct gga tat gat cct tta tgg ttc atc acc tca gaa ccc	528
Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Leu Trp Phe Ile Thr Ser Glu Pro	
165 170 175	
act cag cct ccc cca act cct ccc cca ctg gtc cat gac tcc gac ctt	576
Thr Gln Pro Pro Pro Thr Pro Pro Pro Leu Val His Asp Ser Asp Leu	
180 185 190	
gaa cac gtc cta acc ccc tcc acg tct tgg aca acc aaa atg ctc aag	624
Glu His Val Leu Thr Pro Ser Thr Ser Trp Thr Thr Lys Met Leu Lys	
195 200 205	
ttt atc cag ctg acc ttg cag agc acc aat tac tcc tgc atg gtt tgc	672
Phe Ile Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Ser Cys Met Val Cys	
210 215 220	
gtg gat aga tcc agc ctc tca tcc tgg cat gtg ctc tac acc ccc aac	720
Val Asp Arg Ser Ser Ser Ser Trp His Val Leu Tyr Thr Pro Asn	
225 230 235 240	
atc tcc att ccc caa caa acc tcc tcc cga acc atc ctc ttt cct tct	768
Ile Ser Ile Pro Gln Gln Thr Ser Ser Arg Thr Ile Leu Phe Pro Ser	
245 250 255	
ctt gcc ctg ccc gct cct cca ttc caa ccc ttc cct tgg acc cat tgc	816
Leu Ala Leu Pro Ala Pro Pro Phe Gln Pro Phe Pro Trp Thr His Cys	
260 265 270	
tac caa cct cgc cta cag gca ata acg aca gat gac tgc aac aac tcc	864
Tyr Gln Pro Arg Leu Gln Ala Ile Thr Thr Asp Asp Cys Asn Asn Ser	
275 280 285	
att atc ctc ccc cct ttt tcc ctc gcc ccc gta cct cct ccg gcg aca	912

Ile Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ala Pro Val Pro Pro Pro Ala Thr  
 290 295 300 28/32

<210> 45  
 <211> 304  
 <212> PRT  
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 2

<400> 45

Met Gly Asn Val Phe Phe Leu Leu Leu Phe Ser Leu Thr His Phe Pro  
 1 5 10 15

Pro Val Gln Gln Ser Arg Cys Thr Leu Thr Val Gly Ile Ser Ser Tyr  
 20 25 30

His Ser Ser Pro Cys Ser Pro Thr Gln Pro Val Cys Thr Trp Asn Leu  
 35 40 45

Asp Leu Asn Ser Leu Thr Thr Asp Gln Arg Leu His Pro Pro Cys Pro  
 50 55 60

Asn Leu Ile Thr Tyr Ser Gly Phe His Lys Thr Tyr Ser Leu Tyr Leu  
 65 70 75 80

Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr  
 85 90 95

Ser Pro Ser Tyr Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly  
 100 105 110

Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Ser  
 115 120 125

Trp Lys Phe His Ser Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val Ser Gln Val  
 130 135 140

Ser Leu Arg Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Ser Ser Met Thr Leu Leu  
 145 150 155 160

Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Leu Trp Phe Ile Thr Ser Glu Pro  
 165 170 175

Thr Gln Pro Pro Pro Thr Pro Pro Pro Leu Val His Asp Ser Asp Leu  
 180 185 190

Glu His Val Leu Thr Pro Ser Thr Ser Trp Thr Thr Lys Met Leu Lys  
 195 200 205

Phe Ile Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Ser Cys Met Val Cys  
 210 215 220

Val Asp Arg Ser Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr Thr Pro Asn  
 225 230 235 240

Ile Ser Ile Pro Gln Gln Thr Ser Ser Arg Thr Ile Leu Phe Pro Ser  
 245 250 255

Leu Ala Leu Pro Ala Pro Pro Phe Gln Pro Phe Pro Trp Thr His Cys  
 260 265 270

Tyr Gln Pro Arg Leu Gln Ala Ile Thr Thr Asp Asp Cys Asn Asn Ser  
 275 280 285

Ile Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ala Pro Val Pro Pro Pro Ala Thr  
 290 295 300

<210> 46  
 <211> 930  
 <212> ADN  
 <213> Simian T-cell lymphotropic virus type 3

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(930)  
 <223>

<400> 46  
 atg ggt aag ttt ggc ctt tat tgt ctt gtt cac ctt tac ata ctt ctc 48  
 Met Gly Lys Phe Gly Leu Tyr Cys Leu Val His Leu Tyr Ile Leu Leu  
 1 5 10 15  
 cct gcc tcc tct ggc aat ccc agt cgg tgc acc ctg ttc ata ggg gcc 96  
 Pro Ala Ser Ser Gly Asn Pro Ser Arg Cys Thr Leu Phe Ile Gly Ala  
 20 25 30  
 tct tcc tac cac tcc agc cct tgc ggg tcc agc ctc cca cgg tgt acc 144  
 Ser Ser Tyr His Ser Ser Pro Cys Gly Ser Ser Leu Pro Arg Cys Thr  
 35 40 45  
 tgg aat ctt gac cta ttc tcc ctc acg aaa gat caa agc cta agc ccc 192  
 Trp Asn Leu Asp Leu Phe Ser Leu Thr Lys Asp Gln Ser Leu Ser Pro  
 50 55 60  
 cca tgt cca gac tta att act tac tca caa tac cac aag ccc tac tcc 240  
 Pro Cys Pro Asp Leu Ile Thr Tyr Ser Gln Tyr His Lys Pro Tyr Ser  
 65 70 75 80  
 ctg tat gta ttc cct cat tgg ata act aaa cct aac cgc cgg ggc tta 288  
 Leu Tyr Val Phe Pro His Trp Ile Thr Lys Pro Asn Arg Arg Gly Leu  
 85 90 95

ggg	tac	tat	tcc	gct	tcc	tac	tca	gac	ccc	30/32	tgt	gcc	ata	cag	tgc	ccc	336
Gly	Tyr	Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Ser	Asp	Pro	Cys	Ala	Ile	Gln	Cys	Pro	Gly	
			100					105					110				
tac	ctg	gga	tgc	cag	tcg	tgg	aca	tgc	ccc	tat	acg	ggc	cgc	gtg	tcc		384
Tyr	Leu	Gly	Cys	Gln	Ser	Trp	Thr	Cys	Pro	Tyr	Thr	Gly	Pro	Val	Ser		
			115				120					125					
agt	cgc	cat	tgg	aga	tac	acc	tat	gat	ctt	aac	ttt	acc	cag	gag	gta		432
Ser	Pro	His	Trp	Arg	Tyr	Thr	Tyr	Asp	Leu	Asn	Phe	Thr	Gln	Glu	Val		
			130			135					140						
tca	tcc	gtc	tcc	tta	cac	ttg	cat	ttc	tcc	aaa	tgc	gga	tcc	tcg	ttc		480
Ser	Ser	Val	Ser	Leu	His	Leu	His	Phe	Ser	Lys	Cys	Gly	Ser	Ser	Phe		
					150					155					160		
tcc	ttt	cta	cta	gac	gca	cca	gga	tat	gac	cca	gtg	tgg	ttc	ctc	tcc		528
Ser	Phe	Leu	Leu	Asp	Ala	Pro	Gly	Tyr	Asp	Pro	Val	Trp	Phe	Leu	Ser		
				165				170					175				
tcc	cag	gcc	aca	cag	gct	cca	ccc	aca	cct	gcc	cct	ctc	ata	cgg	gac		576
Ser	Gln	Ala	Thr	Gln	Ala	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Leu	Ile	Arg	Asp		
			180				185					190					
tca	gat	ctc	cag	tac	att	cta	gaa	cgc	ccc	att	cgc	tgg	agc	tct	aag		624
Ser	Asp	Leu	Gln	Tyr	Ile	Leu	Glu	Pro	Pro	Ile	Pro	Trp	Ser	Ser	Lys		
			195				200					205					
att	ctt	aac	ctt	atc	ctc	ctc	acc	cta	aaa	agc	act	aac	tat	tot	tgc		672
Ile	Leu	Asn	Leu	Ile	Leu	Leu	Thr	Leu	Lys	Ser	Thr	Asn	Tyr	Ser	Cys		
			210			215					220						
atg	gtc	tgt	gtt	gac	cgc	tcc	agc	cta	tcc	tca	tgg	cat	gtc	ctg	tat		720
Met	Val	Cys	Val	Asp	Arg	Ser	Ser	Leu	Ser	Ser	Trp	His	Val	Leu	Tyr		
			225		230					235					240		
gga	ccc	act	caa	gtc	ccc	agt	cca	ccc	gac	ccc	caa	gcc	cgg	tct	atc		768
Gly	Pro	Thr	Gln	Val	Pro	Ser	Pro	Pro	Asp	Pro	Gln	Ala	Arg	Ser	Ile		
				245					250					255			
ctg	cga	cct	gcc	tta	gct	att	ccc	gcc	agt	aat	atc	acc	ccc	cgc	ttt		816
Leu	Arg	Pro	Ala	Leu	Ala	Ile	Pro	Ala	Ser	Asn	Ile	Thr	Pro	Pro	Phe		
			260					265					270				
cct	tgg	acc	cat	tgc	tat	cgc	cct	cct	cgc	caa	gcc	atc	tcc	tcg	gag		864
Pro	Trp	Thr	His	Cys	Tyr	Arg	Pro	Pro	Pro	Gln	Ala	Ile	Ser	Ser	Glu		
			275				280					285					
aat	tgt	aac	aac	tct	gta	gtg	ctg	ccc	ccc	ttt	tct	ctg	tct	cca	att		912
Asn	Cys																

```
<210> 47
<211> 310
<212> PRT
<213> Simian T-cell lymphotropic virus type 3
```



&lt;400&gt; 47

Met Gly Lys Phe Gly Leu Tyr Cys Leu Val His Leu Tyr Ile Leu Leu  
1 5 10 15

Pro Ala Ser Ser Gly Asn Pro Ser Arg Cys Thr Leu Phe Ile Gly Ala  
20 25 30

Ser Ser Tyr His Ser Ser Pro Cys Gly Ser Ser Leu Pro Arg Cys Thr  
35 40 45

Trp Asn Leu Asp Leu Phe Ser Leu Thr Lys Asp Gln Ser Leu Ser Pro  
50 55 60

Pro Cys Pro Asp Leu Ile Thr Tyr Ser Gln Tyr His Lys Pro Tyr Ser  
65 70 75 80

Leu Tyr Val Phe Pro His Trp Ile Thr Lys Pro Asn Arg Arg Gly Leu  
85 90 95

Gly Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ala Ile Gln Cys Pro  
100 105 110

Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser  
115 120 125

Ser Pro His Trp Arg Tyr Thr Tyr Asp Leu Asn Phe Thr Gln Glu Val  
130 135 140

Ser Ser Val Ser Leu His Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Ser Ser Phe  
145 150 155 160

Ser Phe Leu Leu Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Val Trp Phe Leu Ser  
165 170 175

Ser Gln Ala Thr Gln Ala Pro Pro Thr Pro Ala Pro Leu Ile Arg Asp  
180 185 190

Ser Asp Leu Gln Tyr Ile Leu Glu Pro Pro Ile Pro Trp Ser Ser Lys  
195 200 205

Ile Leu Asn Leu Ile Leu Leu Thr Leu Lys Ser Thr Asn Tyr Ser Cys  
210 215 220

Met Val Cys Val Asp Arg Ser Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr  
225 230 235 240

Gly Pro Thr Gln Val Pro Ser Pro Pro Asp Pro Gln Ala Arg Ser Ile  
245 250 255

Leu Arg Pro Ala Leu Ala Ile Pro Ala Ser Asn Ile Thr Pro Pro Phe  
260 265 270

Pro Trp Thr His Cys Tyr Arg Pro Pro Pro Gln Ala Ile Ser Ser Glu  
275 280 285

Asn Cys Asn Asn Ser Val Val Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Ile  
290 295 300

Pro Asn Val Ser Arg Pro  
305 310

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/FR 03/01274

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12Q1/68 C12Q1/70 A61K31/7088 A61K38/02 A61K39/21  
- C07K14/15 - C07K16/10 - C12N15/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12Q A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 384 566 A (WISTAR INST) 29 August 1990 (1990-08-29) * voir les oligonucléotides p. 7, l. 24 et p. 7, l. 50 *	12
X	WO 00 46403 A (US HEALTH ;YANG CHUNFU (US); LAL RENU B (US); PIENIAZEK DANUTA (US) 10 August 2000 (2000-08-10) * voir en particulier p. 10, l. 30-34 et Exemple 1 * ----- -/--	12

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 September 2003

Date of mailing of the international search report

18. 12. 2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Pinta, V.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/01274

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>SUAREZ DAVID L ET AL.: "Identification of hypervariable and conserved regions in the surface envelope gene in the bovine lentivirus."  VIROLOGY,  vol. 212, no. 2, 1995, pages 728-733,  XP002253831  ISSN: 0042-6822  * voir en particulier la Table 2 *</p> <p>-----</p>	12
X	<p>RAMIREZ E. ET AL.: "Genetic characterization and phylogeny of human T-cell lymphotropic virus type I from Chile."  VIRUS RESEARCH,  vol. 84, 20 March 2002 (2002-03-20),  XP001148390  * voir en particulier p. 137, col. 1, l. 35, oligonuclootide SG294 *</p> <p>-----</p>	12
A	<p>DUBE S. ET AL.: "Degenerate and specific PCR assays for the detection of bovine leukaemia virus and primate T cell leukaemia/lymphoma virus pol DNA and RNA: phylogenetic comparisons of amplified sequences from cattle and primates from around the world."  JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY,  vol. 78, 1997, pages 1389-1398,  XP002233752  abstract</p> <p>-----</p>	
A	<p>GRAY G. S. ET AL.: "Envelope gene sequence of HTLV-1 isolate MT-2 and its comparison with other HTLV-1 isolates."  VIROLOGY,  vol. 177, 1990, pages 391-395, XP008014557  * voir la Figure 1 *</p> <p>-----</p>	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 03/01274

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

**see supplementary sheet**

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-19 (in full)

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority has determined that this international application contains more than one invention or group of inventions, namely

**Invention 1: Claims 1-19 (in full)**

Degenerate oligonucleotides from a nucleotide sequence coding for polypeptide fragments of 5-10 amino acids from fragments in positions 75 to 90 and 230 to 245 of primate T cell leukaemia/lymphoma virus envelope proteins, uses of oligonucleotide pairs consisting of said degenerate oligonucleotides for detecting PTLV, methods for detecting PTLV using oligonucleotide pairs consisting of said degenerate oligonucleotides, and the use of said methods, and a kit comprising said degenerate oligonucleotides.

**Inventions 2-6: 20, 22 and 24-28 (all in part)**

HTLV-1 variants, polypeptides delimited on the N-terminal side by an amino acid located between positions 75 and 90 and on the C-terminal side by an amino acid located between positions 230 and 245 of PTLV envelope proteins, nucleic acids coding for said polypeptides, antibodies to said polypeptides or said variant, and a pharmaceutical composition including one of said polypeptides or one of said nucleic acids or one of said antibodies,

wherein:

- for invention 2: the envelope protein of said HTLV-1 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 31, said polypeptide consists of SEQ ID NO 31, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 30;
- for invention 3: the envelope protein of said HTLV-1 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 33, said polypeptide consists of SEQ ID NO 33, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 32;
- for invention 4: the envelope protein of said HTLV-1 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 35, said polypeptide consists of SEQ ID NO 35, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 34;

- for invention 5: the envelope protein of said HTLV-1 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 37, said polypeptide consists of SEQ ID NO 37, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 36;

- for invention 6: the envelope protein of said HTLV-1 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 39, said polypeptide consists of SEQ ID NO 39, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 38.

Invention 7: 21 (in full), 22 and 24-28 (in part)

HTLV-2 variants, polypeptides delimited on the N-terminal side by an amino acid located between positions 75 and 90 and on the C-terminal side by an amino acid located between positions 230 and 245 of PTLV envelope proteins, nucleic acids coding for said polypeptides, antibodies to said polypeptides or said variant, and a pharmaceutical composition including one of said polypeptides or one of said nucleic acids or one of said antibodies,

wherein the envelope protein of said HTLV-2 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 41, said polypeptide consists of SEQ ID NO 41, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 40.

Inventions 8-10: 22, 23 and 25-28 (all in part)

PTLV variants, polypeptides delimited on the N-terminal side by an amino acid located between positions 75 and 90 and on the C-terminal side by an amino acid located between positions 230 and 245 of PTLV envelope proteins, nucleic acids coding for said polypeptides, antibodies to said polypeptides or said variant, and a pharmaceutical composition including one of said polypeptides or one of said nucleic acids or one of said antibodies,

wherein:

- for invention 8: said PTLV variant corresponds to HTLV-1 strain MT-2, said envelope protein is represented by peptide sequence SEQ ID NO 43, said polypeptide is delimited on the N-terminal side by an amino acid in position 83 or 89 and on the C-terminal side by an amino acid in position 139 or 145 of said envelope protein, and said amino acid can include SEQ ID NO 42;

- for invention 9: said PTLV variant corresponds to HTLV-2 strain NRA, said envelope protein is represented by peptide sequence SEQ ID NO 45, said polypeptide is delimited on the N-terminal side by an amino acid in position 79 or 85 and on the C-terminal side by an amino acid in position 135 or 141 of said envelope protein, and said amino acid can include SEQ ID NO 44; and

- for invention 10: said PTLV variant corresponds to strain STLV-3, said envelope protein is represented by peptide sequence SEQ ID NO 47, said polypeptide is delimited on the N-terminal side by an amino acid in position 82 or 88 and on the C-terminal side by an amino acid in position 138 or 144 of said envelope protein, and said amino acid can include SEQ ID NO 46.



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 03/01274

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
EP 0384566	A	29-08-1990	AU	4878890 A		02-08-1990
			CA	2008731 A1		27-07-1990
			EP	0384566 A2		29-08-1990
			JP	3139299 A		13-06-1991
-----						
WO 0046403	A	10-08-2000	AU	3219400 A		25-08-2000
			WO	0046403 A2		10-08-2000
-----						

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 03/01274

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

C18 7 C12Q1/68 C12Q1/70 A61K31/7088 A61K38/02 A61K39/21  
C07K14/15 C07K16/10 C12N15/48

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

C18 7 C12Q A61K C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 384 566 A (WISTAR INST) 29 août 1990 (1990-08-29) * voir les oligonucléotides p. 7, l. 24 et p. 7, l. 50 *	12
X	WO 00 46403 A (US HEALTH ;YANG CHUNFU (US); LAL RENU B (US); PIENIAZEK DANUTA (US) 10 août 2000 (2000-08-10) * voir en particulier p. 10, l. 30-34 et Exemple 1 *	12

-/-

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

## \* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non  
considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international  
ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de  
priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une  
autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à  
une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais  
postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la  
date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la  
technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe  
ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut  
être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité  
inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée  
ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive  
lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres  
documents de même nature, cette combinaison étant évidente  
pour une personne du métier

"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

9 septembre 2003

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

18.12.2003

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel.: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Pinta, V.

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>SUAREZ DAVID L ET AL.: "Identification of hypervariable and conserved regions in the surface envelope gene in the bovine lentivirus."  VIROLOGY,  vol. 212, no. 2, 1995, pages 728-733,  XP002253831  ISSN: 0042-6822  * voir en particulier la Table 2 *</p>	12
X	<p>RAMIREZ E. ET AL.: "Genetic characterization and phylogeny of human T-cell lymphotropic virus type I from Chile."  VIRUS RESEARCH,  vol. 84, 20 mars 2002 (2002-03-20),  XP001148390  * voir en particulier p. 137, col. 1, l. 35, oligonucléotide SG294 *</p>	12
A	<p>DUBE S. ET AL.: "Degenerate and specific PCR assays for the detection of bovine leukaemia virus and primate T cell leukaemia/lymphoma virus pol DNA and RNA: phylogenetic comparisons of amplified sequences from cattle and primates from around the world."  JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY,  vol. 78, 1997, pages 1389-1398,  XP002233752  abrégé</p>	
A	<p>GRAY G. S. ET AL.: "Envelope gene sequence of HTLV-1 isolate MT-2 and its comparison with other HTLV-1 isolates."  VIROLOGY,  vol. 177, 1990, pages 391-395, XP008014557  * voir la Figure 1 *</p>	

**Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)**

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n<sup>os</sup>  
se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☐ Les revendications n<sup>os</sup>  
se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n<sup>os</sup>  
sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

**Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)**

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n<sup>os</sup>
4. ☒ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n<sup>os</sup>  
1-19 (complètement)

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

## SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

## Invention 1: 1-19 (complètement)

oligonucléotides dégénérés issus d'une séquence nucléotidique codant pour des fragments polypeptidiques de 5-10 acides aminés issus de fragments compris entre les positions 75-90 et 230-245 des protéines d'enveloppe des virus de lymphomes/leucémies T chez les primates, utilisations de couples d'oligonucléotides constitués desdits oligonucléotides dégénérés pour la détection de PTLV, procédés de détection de PTLV utilisant des couples d'oligonucléotides constitués desdits oligonucléotides dégénérés et application desdits procédés, et trousse comportant lesdits oligonucléotides dégénérés.

---

## Inventions 2-6: 20, 22 et 24-28 (toutes partiellement)

## SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

variants de HTLV-1, polypeptides délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90 et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe de PTLV, acides nucléiques codant pour lesdits polypeptides, anticorps dirigés contre lesdits polypeptides ou ledit variant, et composition pharmaceutique comprenant un desdits polypeptides ou un desdits acides nucléiques ou un desdits anticorps,

où:

- pour l'invention 2: la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-1 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 31, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 31, et où ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 30;

- pour l'invention 3: la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-1 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 33, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 33, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 32;

- pour l'invention 4: la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-1 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 35, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 35, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 34;

- pour l'invention 5: la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-1 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 37, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 37, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 36;

- pour l'invention 6: la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-1 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 39, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 39, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 38.

---

Invention 7: 21 (complètement), 22 et 24-28 (partiellement)

variant de HTLV-2, polypeptides délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90 et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe de PTLV, acides nucléiques codant pour lesdits polypeptides, anticorps dirigés contre lesdits polypeptides ou ledit variant, et composition pharmaceutique comprenant un desdits polypeptides ou un desdits acides nucléiques ou un desdits anticorps,

où la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-2 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 41, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 41, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 40.

## SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

---

Inventions 8-10: 22, 23 et 25-28 (toutes partiellement)

variants de PTLV, polypeptides délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90 et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe de PTLV, acides nucléiques codant pour lesdits polypeptides, anticorps dirigés contre lesdits polypeptides ou ledit variant, et composition pharmaceutique comprenant un desdits polypeptides ou un desdits acides nucléiques ou un desdits anticorps,

où:

- pour l'invention 8, ledit variant de PTLV correspond à la souche MT-2 de HTLV-1, ladite protéine d'enveloppe est représentée par la séquence peptidique SEQ ID NO: 43, ledit polypeptide est délimité du côté N-terminal par un acide aminé situé à la position 83 ou 89 et du côté C-terminal par un acide aminé situé à la position 139 ou 145 de ladite protéine d'enveloppe, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 42.

- pour l'invention 9, ledit variant de PTLV correspond à la souche NRA de HTLV-2, ladite protéine d'enveloppe est représentée par la séquence peptidique SEQ ID NO: 45, ledit polypeptide est délimité du côté N-terminal par un acide aminé situé à la position 79 ou 85 et du côté C-terminal par un acide aminé situé à la position 135 ou 141 de ladite protéine d'enveloppe, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 44.

- pour l'invention 10, ledit variant de PTLV correspond à la souche STLV-3, ladite protéine d'enveloppe est représentée par la séquence peptidique SEQ ID NO: 47, ledit polypeptide est délimité du côté N-terminal par un acide aminé situé à la position 82 ou 88 et du côté C-terminal par un acide aminé situé à la position 138 ou 144 de ladite protéine d'enveloppe, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 46.

---

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 03/01274

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0384566	A	29-08-1990	AU 4878890 A	02-08-1990
			CA 2008731 A1	27-07-1990
			EP 0384566 A2	29-08-1990
			JP 3139299 A	13-06-1991
-----				
WO 0046403	A	10-08-2000	AU 3219400 A	25-08-2000
			WO 0046403 A2	10-08-2000
-----				